



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria

**Presencia de *Leucocytozoon smithi* en pavos de engorde
de crianza comercial del departamento de Lima**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Anlly Dessire LAZO PALOMINO

Lima, Perú

2007



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Lazo, A. Presencia de *Leucocytozoon smithi* en pavos de engorde de crianza comercial del departamento de Lima [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria; 2007.

CONTENIDO

Titulo	I
Contenido	II
Lista de tablas	IV
Lista de apéndices	V
Lista de figuras	VI
Resumen	VII
Summary	VIII

I.	Introducción.....	1
II.	Revisión Bibliográfica	
2.1	Historia.....	3
2.2	Definición	4
2.3	Características	
2.3.1	Etiología	5
2.3.2	Morfología.....	6
2.3.3	Ciclo biológico.....	8
2.4	Epidemiología del parásito.....	10
2.5	Impacto económico.....	11
2.6	Generalidades del vector.....	12
2.6.1	Taxonomía.....	13
2.6.2	Morfología.....	14
2.6.3	Ciclo biológico.....	14
2.6.4	Distribución geográfica.....	16
2.7	Patogénesis.....	17
2.8	Signos clínicos.....	19
2.9	Lesiones.....	20
2.9.1	Microscópicas.....	20
2.9.2	Macroscópicas.....	20
2.10	Diagnóstico.....	21
2.11	Tratamiento.....	22
2.12	Prevención y control.....	22

III. Materiales y método	
3.1 Animales.....	24
3.2 Lugar de ejecución.....	24
3.3 Tamaño de muestra.....	24
3.4 Características de la muestra.....	26
3.5 Obtención de la muestra.....	26
3.6 Procesamiento de la muestra.....	26
3.6.1 Materiales.....	27
3.6.2 Soluciones.....	27
3.7 Lectura de lámina.....	27
3.8 Análisis Estadístico.....	28
IV. Resultados	29
V. Discusión	32
VI. Conclusión y Recomendaciones	36
VII. Literatura citada	37

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Numero de los animales muestreados por edad (semanas).....	25
Tabla 2. Numero de los animales muestreados por lugar.....	25
Tabla 3. Distribución de las muestras de acuerdo a la edad.....	29
Tabla 4. Distribución de las muestras de acuerdo a la procedencia.....	29
Tabla 5. Rango de probabilidades donde se distribuye las prevalencias para cada edad al 90% de confianza.....	30
Tabla 6. Rango de probabilidades donde se distribuye las prevalencias para cada zona al 90% de confianza.....	30

LISTA DE APÉNDICES

APÉNDICE 1

Tabla 7. Especies de <i>Simulium</i> spp. registradas para Perú.....	44
---	----

Tabla 8. Géneros y especies de <i>Simulium</i> spp registradas para Perú.....	45
--	----

APÉNDICE 2

Procedimientos para la elaboración de la tinción Giemsa según el Instituto Nacional de Salud.....	47
---	----

APÉNDICE 3

Tabla 9. Aves de Humedales de Puerto Viejo Migratorias de Norte América.....	48
---	----

Tabla 10. Aves silvestres susceptibles a la Leucocytozoonosis.....	49
---	----

APÉNDICE 4

Foto 1. Pavito postrado.....	50
Foto 2. Intestinos hemorrágicos y congestionados.....	50
Foto 3. Intestinos hemorrágicos y congestionados.....	51
Foto 4. Hepatomegalia.....	51
Foto 5. Bazo hemorrágico.....	52
Foto 6. Bazo hemorrágico y moteado.....	52
Foto 7, 8 y 9. Estructuras parasitarias en riñón.....	53
Foto 10. Estructuras parasitarias en hígado.....	54
Foto 11. Frotis sanguíneo de pavos muestreados.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de la probabilidad de la prevalencia de la Leucocitozoonosis para la totalidad de muestras según el efecto de la edad.....	31
Figura 2. Distribución de la probabilidad de la prevalencia de la Leucocitozoonosis para la totalidad de muestras según el efecto del lugar.....	31
Figura 3. Microgametocyto.....	56
Figura 4. Macrogamocyto.....	56

RESUMEN

La leucocitozoonosis de los pavos es una enfermedad producida por el protozoo *Leucocytozoon smithi* y se caracteriza por producir grandes pérdidas económicas en la industria avícola. El ciclo de vida del hemoparásito comprende el desarrollo de la esquizogonia en los tejidos del ave, la gametogonia en las células sanguíneas y la fecundación y esporogonia en el artrópodo vector. El objetivo del presente trabajo fue demostrar la presencia de las formas gametogónicas del *Leucocytozoon smithi* en pavos procedentes de granjas comerciales del departamento de Lima. Para tal efecto se tomaron muestras de sangre de 346 pavos aparentemente sanos procedentes de once granjas comerciales. Se muestrearon animales entre de 1 a 17 semanas durante los meses de Octubre a Noviembre del 2005. Se prepararon dos frotis de sangre por pavo los que fueron coloreados con tinción Giemsa y observados al microscopio simple (100X). No se observaron gametocitos de *L. smithi* en ninguno de los frotis examinados concluyéndose que el parásito no se encuentra presente en poblaciones aparentemente sanas y de estarlo lo esta en una prevalencia menor al 1%.

Palabras claves: *Leucocytozoon smithi*, hemoparasito, pavos

SUMMARY

The leucocytozoonosis in turkeys is a disease caused by the protozoan blood parasite *Leucocytozoon smithi*, which is characterized by great economic losses in bird-raising industry. The life cycle of *Leucocytozoon* includes development of schizogony phase in tissue cells from turkeys, the gametogony phase in blood cells and the fecundation and sporogony in a vector (the blackfly). The aim of this study was to demonstrated the presence of the gametogonics forms of *Leucocytozoon smithi* in blood smears from commercial turkeys of department of Lima. For such effect we took 346 blood samples of healthy domestic turkeys of 11 commercial farmers. The samples were taken during October to November from 2005 and they were 1 to 17 weeks old. We stained 2 smears for each turkey with Giemsa's stain and they were examined by microscope at 100x. All samples were negative to the presence of gametocytes from *L. smithi* in blood cells, so the parasite is not present in the healthy commercial turkeys and if it is the prevalence would be less 1%.

Key words: Blood parasite, *Leucocytozoon smithi*, turkeys

I. INTRODUCCIÓN

El Perú ocupa el cuarto lugar en Latinoamérica con respecto a la producción de pavos. Por otro lado, el Perú exporta pavos a varios países como Ecuador, Venezuela, Colombia, Japón, Bolivia y Panamá. Así mismo, en el Perú se consume al año 17 mil toneladas de carne de pavo. En este sentido, en los últimos cuatro años (2001-2005), el consumo de carne de pavo ha mostrado un aumento del 30 por ciento, demostrando que la producción de pavos es una importante actividad económica (MINAG, 2006).

La leucocitozoonosis en pavos es una enfermedad de curso agudo o crónico que afecta exclusivamente a las aves domésticas y silvestres. El agente causal, el *Leucocytozoon smithi*, es un protozoo de ciclo indirecto perteneciente a la familia Plasmodiidae que infecta las células y tejidos de las aves (Bermúdez, 2003). El vector responsable de la transmisión es la denominada “mosca negra” perteneciente al género *Simulium* de la familia Simuliidae. La enfermedad se presenta mayormente en países tropicales, sobre todo durante la primavera (Soulsby, 1987). No obstante, en Europa y diversas zonas templadas del hemisferio norte suelen observarse esporádicamente pérdidas de animales debido a la enfermedad (Cordero, 1999).

Leucocytozoon smithi fue reportado por primera vez en 1895 en pavos domésticos de los Estados Unidos por Theobald Smith (Wehr, 1962). El parásito es muy patógeno para los pavipollos, sobre todo en aves menores de 12 semanas de edad, donde puede tener consecuencias letales. En este sentido puede ocasionar una enfermedad subclínica que deja al ave predispuesta a infecciones secundarias o clínica en caso de infecciones agudas que puede terminar en la muerte del animal (Davidson and Wentworth, 1992).

De acuerdo a su estadio de desarrollo, el *L. smithi* se puede encontrar en eritrocitos, leucocitos, hepatocitos y otras células. En la patogenia es importante la destrucción directa de los hematíes parasitados de médula ósea y sangre circulante y la alteración molecular de sus componentes que da origen a hemólisis y bloqueo capilar por microembolias, necrosis del hígado, bazo y pulmones. Por otro lado, los signos frecuentes que se observan son anorexia, emaciación, debilidad, trastornos de la locomoción como tambaleo y marcha vacilante, tortícolis y palidez de las mucosas (Cordero, 1999).

La leucocitozoonosis es una enfermedad que no ha sido reportada en el Perú. Sin embargo, en los meses de junio y agosto del 2005 llegaron al Laboratorio de Patología Aviar de la Universidad de San Marcos los primeros casos compatibles con leucocitozoonosis en pavitos de 10 días a 3 semanas de edad. La granja de origen de las aves, tuvo un incremento súbito de mortalidad y a la necropsia las lesiones consistieron principalmente de congestión de diversos órganos, principalmente de intestinos y pulmones. Además, se pudo observar esplenomegalia, hepatomegalia y bazo de apariencia moteada.

Inicialmente se sospechó de una infección viral como causa del problema, pero los exámenes histopatológicos demostraron la presencia repetida de formas esquizogónicas, compatibles con leucocitozoonosis, a nivel de hígado, riñón y bazo. Estos hallazgos y el hecho de la presencia del vector, motivó la realización del presente estudio para evaluar la posible presencia del *Leucocytozoon smithi* en sangre de pavos de diferentes zonas del departamento de Lima.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 HISTORIA

Theobald Smith reportó en 1895 la presencia de un “flagelado” en la sangre de pavos de Rhode Island y Massachussets, Oriente de los Estados Unidos. Laveran y Lucet en 1905 observaron organismos similares en sangre de pavos en Francia y los llamaron *Haemamoeba smithi* en honor al eminente científico americano. Las observaciones de Smith fueron identificadas claramente como el estado de gametocitos de las especies de *Leucocytozoon*, un género creado por Danilevskii, a partir de ello el nombre del parásito ahora es conocido como *Leucocytozoon smithi* (Wehr, 1962).

Las siguientes observaciones del parásito fueron realizadas por Wickware en 1922 en el Oriente de Canadá, Stephan en 1922 en Alemania, Knuth y Magdeburg en 1924 en Alemania, Yakimoff y Rastegaieff en 1927 en la península Crimean y por Knuth and David en 1928 en Alemania (Volkmar, 1929). En abril de 1953 ocurrió un severo brote de leucocitozoonosis en pavos de Cypress Woods Plantation, Ridgeland, Carolina del Sur. Se realizaron minuciosas investigaciones desde la conducta hasta exámenes postmortem de aves enfermas y muertas. Las láminas de sangre de las aves enfermas contenían un gran número de gametocitos (Wehr, 1962).

Leucocytozoon smithi también ha sido reportado en Dakota del Norte y Minnesota por Volkmar en 1929; Nebraska por Skidmore en 1932; Alabama, Carolina del sur, Georgia, Florida y Missouri por Travis *et al.* en 1939; Virginia por Johnson y *et al.* en 1938 y por Johnson en 1942; California por Hinshaw y McNeil en 1943; Texas por Banks en 1943 y en Pennsylvania por Wehr y Coburn en 1948. Estos reportes sugieren que el parásito podría tener una amplia distribución que todavía no ha sido establecida (Wehr, 1962).

Atchley fue el primero en reportar una especie de *Leucocytozoon* en pollos del Hemisferio Occidental, observando *L. andrewsi* en pollos de Carolina del Sur. Biswal y Naik y Akiba *et al.* reportaron *L. caulleryi* en pollos de la India y Japón. *L. sabrazei* ha sido observado en pollos en Tonkin y Malay por Cerni, Biswal y Naik, Kuppusamy y otros (Wehr, 1962).

L. anseris fue descubierto por Knuth y Magdeburg en sangre y órganos internos de gansos jóvenes en Alemania y *L. anatis* por Wikware en sangre de patos domésticos de Canadá. *L. anatis* es un parásito común de los patos en Norteamérica y fue establecido como sinónimo de *L. simondi* por Herman. *L. schuffnery* ha sido observado en aves domésticas en Sumatra por Franca y *L. martini* en Tonkin por Cerny. *L. costae* en aves de guinea en el África por Tendeiro y *L. neavei* en aves de guinea por Kerandel (Wehr, 1962).

2.2 DEFINICIÓN

La leucocitozoonosis es una enfermedad producida por el hemoparásito *Leucocytozoon* spp., parásito que es exclusivo de las aves domésticas y silvestres. El nombre de la enfermedad deriva de la creencia que los gametocitos solo se encuentran en los leucocitos sanguíneos, pero investigaciones posteriores han demostrado que los gametocitos pueden ocupar y desarrollarse tanto en eritrocitos como en leucocitos (Bermúdez, 2003).

Leucocytozoon smithi es el agente etiológico de la leucocitozoonosis en los pavos. La enfermedad que produce es parecida a la malaria por eso se conoce con el nombre de malaria del pavo. La leucocitozoonosis primero fue diagnosticada en pavos domésticos y posteriormente en pavos silvestres (Cook, 1971).

2.3 CARACTERÍSTICAS

2.3.1 ETIOLOGÍA

El agente causal de la leucocitozoonosis es el *Leucocytozoon* spp perteneciente al Phylum Apicomplexa, Suborden Haemospororina, Familia Plasmodidae, Género *Leucocytozoon*. Las similitudes en el ciclo de vida y en la ultraestructura de algunos estadios de vida del *Leucocytozoon*, *Haemoproteus* y *Plasmodium* obligan la inclusión de estos tres géneros en una sola Familia, la Plasmodidae (Bermúdez, 2003).

L. smithi puede infectar a pavos silvestres y domésticos pero sólo causa enfermedad en los últimos. El criterio para designar las especies incluye rango de hospedadores, características del gametocito (tinción, tamaño, naturaleza), tamaño de la distorsión, cambio de forma y la posición del núcleo de la célula hospedadora (Springer, 1997). Algunas especies de *Leucocytozoon* pueden infectar a una sola especie de ave mientras que otros pueden infectar a más de una (Whiteman, 1983).

Las especies más conocidas son: *Leucocytozoon smithi* que infecta a pavos; *L. simondi* a gansos y patos; *L. neavai* a la gallina de guinea; *L. andrewsi* a pollos; *L. bonasae* a la perdiz blanca; *L. marchouxi* a palomas y *L. caulleryi* que infecta a la gallina (Campillo, 1999). En aves silvestres *L. ziemanni* afecta al búho norteamericano (*Buho virginianus*) (Kocan, 1978), *L. toddi* al águila *Haliaeetus leucocephalus* (Stuht, 1999) y al halcón *Falco subbuteo* (Crone, 2001), *L. fringuillinarum* al gorrión *Passer domesticus* (Gill and Paperna, 2005) y *L. lovati* al faisán *Dendragapus obscurus* (Allan, 1989)

2.3.2 MORFOLOGÍA

La forma natural del parásito libre es una esfera pero dentro de la célula hospedadora cede a las presiones de la pared celular y del núcleo de dicha célula (Volkmar, 1929). El citoplasma aparece a manera de unos “cuernos” pálidos que se extienden más allá del parásito y el núcleo se encuentra alargado formando una banda oscura hacia un lado del parásito que frecuentemente se divide, así se observa una banda oscura a cada lado del parásito (Soulsby, 1987).

El núcleo ocasionalmente puede aparecer dividido en tres o más partes, en algunos casos se ha observado la presencia de dos parásitos dentro de una célula hospedadora. El largo del núcleo de la célula hospedadora es mucho más pequeño que el *Leucocytozoon*, usualmente $1/3$ ó $2/3$ del parásito. Así mismo, las diferencias de tensión y las corrientes producidas en el citoplasma del parásito también juegan un rol importante para determinar la forma del parásito, así el *Leucocytozoon* sp. llega a ser enlongado (Volkmar, 1929).

En el ave, los parásitos maduros libres muestran todos los cambios transitorios de una forma redonda a una forma ovalada y en las células hospedadoras de un solo núcleo es siempre ovalada. El parásito cede fácilmente a la presión del núcleo de la célula parasitada adoptando la forma de un haba. En muy pocos casos el núcleo de la célula hospedadora aparece encima del gametocito ocupando el centro de la célula dificultando la identificación del parásito. El núcleo de la célula hospedadora puede dividirse en dos o más partes y finalmente se desintegra en diminutos gránulos. Los gránulos pueden rodear al parásito, como una banda de $2\text{ }\mu\text{m}$ de ancho, algunas veces se ven dispersos sobre el protoplasma y muy pocas veces sobre la parte fusiforme de la célula hospedadora (Volkmar, 1929).

Los parásitos deformados reportados en los frotis sanguíneos se deben al colapso y ruptura de la frágil estructura de la forma alargada del parásito que cede fácilmente a la tensión de la pared celular y a la presión del núcleo de la célula hospedadora. La forma redonda del parásito se debe a la fuerte consistencia y gran resistencia de su citoplasma que hace no sólo mantener su forma sino que ejerce presión sobre el núcleo de la célula hospedadora dando la impresión que el parásito “comió” su núcleo (Volkmar, 1929).

Los gametocitos de *Leucocytozoon smithi* son alargados y miden de 20-22 μm de largo por 6 μm de ancho. En la célula infectada los gametocitos aparecen de forma fusiforme debido a que se distorsionan y extienden de 4 a 5 veces más de largo, llegando a medir hasta 45 μm de largo por 14 μm de ancho (Volkmar, 1929; Soulsby, 1987). Los gametocitos pueden permanecer en sangre periférica hasta 13 meses después de una infección natural (Dick, 1978).

El micro y macrogametocito presentan núcleo, este núcleo en el microgametocito no resalta ni está bien definido como en el caso del macrogametocito. El núcleo tiene diferentes formas como resultado de las corrientes y diferencias de presión del citoplasma y mide de 5.8 x 3.6 μm . Los gránulos de cromatina no se han observado en el núcleo de *L. smithi* como si en el caso de *L. neavei*, *L. sabrazei* o *L. struthiones*. El citoplasma del macrogametocito es alveolar o vacuolar, algo denso y se tiñe profundamente azul violeta. El microgametocito es menos denso y se tiñe de color azul pálido. La medida de las vacuolas varía de 0.1 a 3.5 μm de diámetro, esto indica que son de un tipo contráctil (Volkmar, 1929).

Los esquizontes se pueden encontrar en tejidos de hígado, bazo, corazón, pulmones, músculo y bursa de fabricio de las aves. También los podemos encontrar, pero en menor número, en cerebro, adrenales, tiroides, timo, testículos y ovario. Los esquizontes hepáticos pueden medir de 10-20 μm de diámetro (Soulsby, 1987).

2.3.3 CICLO BIOLÓGICO

El ciclo se inicia cuando el vector se alimenta de sangre con gametocitos que se liberan de la célula hospedadora a merced de los procesos digestivos. Así se inicia la gametogonia o fase sexual que consiste en la unión del micro y macrogameto para formar el cigoto. La gametogenesis se inicia entre 1-2 minutos después que los gametocitos fueron ingeridos por la mosca negra y la fertilización a los 5 minutos de la ingestión. (Steele, 1993).

La esporogonia se inicia después de la fertilización en el intestino del vector. Los cigotos se alargan y dan lugar a los ooquinetos que completan su desarrollo a las 6-8 horas de la ingestión. Los ooquinetos penetran las células epiteliales del intestino donde se convierten en ooquistes. Los ooquistes requieren un tiempo de 2-7 días y una temperatura aproximada de 13° C para formar los esporozoitos (Greiner, 1979). Los ooquistes maduros se rompen y liberan en el hemocele los esporozoitos activos que ingresan a las glándulas salivales y son inyectados a un hospedero aviar susceptible cuando el mosquito vuelve a alimentarse (Olsen, 1977).

La esquizogonia o fase asexual se inicia cuando los esporozoitos en circulación se dirigen al hígado y penetran en las células de Kupffer, dando lugar a la primera generación de merozoitos hepáticos. Los esquizontes formados a partir de esporozoitos sólo aparecen en el hígado recibiendo la denominación de esquizontes hepáticos. La ruptura de los esquizontes hepáticos se da el día 5 de la exposición (Steele, 1993). La formación de los esquizontes hepáticos se inicia el día 3 de la exposición, pero puede verse completamente formado a partir del día 6. El día 10 los esquizontes y megaloesquizontes se observan completamente llenos con numerosos merozoitos, los cuales escapan mediante la ruptura de la pared celular. El esquizonte hepático causa una ligera o ninguna alteración de la célula hospedadora (Siccardi, 1974).

Los merozoitos siguen tres caminos, unos penetran nuevamente las células hepáticas para dar lugar a otro ciclo esquizogónico hepático, otros invaden células sanguíneas para formar los gametocitos y otros son fagocitados por macrófagos. Los macrófagos se dirigen al bazo, corazón, pulmones, cerebro y músculo donde se realiza la segunda esquizogonia o megaloesquizonte (Bermúdez, 2003). Los megaloesquizontes están rodeados de una gruesa membrana, puede llegar

a medir hasta 50 μm de diámetro, están formados por citómeros que luego de una división múltiple da origen a los merozoitos (Cordero, 1999). Los megaloesquizontes representan generaciones subsecuentes de esquizontes (Lapage, 1983).

Los merozoitos que penetran los glóbulos rojos dan lugar a los gametocitos redondos o inmaduros y los que penetran los glóbulos blancos a gametocitos alargados o maduros. Por lo tanto los vectores deben de ingerir sangre con gametocitos alargados ya que éstos son infectivos mientras que los gametocitos redondos no (Wehr, 1962). Los gametocitos que se originan de los merozoitos de los esquizontes hepáticos aparecen en circulación y en tejidos a partir del día 14 de la exposición. El periodo prepatente de la infección es en promedio unos 9 días (Soulsby, 1987).

Los gametocitos de *L. simondi* pueden ser encontrados en circulación desde que se inicia la primavera hasta el inicio del otoño. En cambio en el caso de *L. smithi* los gametocitos persisten en circulación durante todo un año, sin embargo el número es muy reducido en los meses de invierno (Davidson y Wentworth, 1992). Los gametocitos de *Leucocytozoon* spp. deforman mucho la célula sanguínea que parasitan. El núcleo aparece desplazado debido al crecimiento del parásito, de manera que se vuelve irreconocible o puede incluso destruir la célula o dividir total o parcialmente su núcleo en dos partes (Lapage, 1983; Soulsby, 1987).

La identidad de la célula hospedadora para los gametocitos ha sido discutida durante varios años. Los primeros estudios consideraban que las células hospedadoras eran eritrocitos inmaduros y células mononucleares sanguíneas (Volkmar, 1929). Posteriormente se consideró que las células hospedadoras eran solo linfocitos y luego linfocitos y eritrocitos. En el caso de *L. simondi* hubo mucha controversia acerca de la naturaleza de las células en que parasitan los gametocitos, pero en la actualidad existe un consenso casi general de que se alojan más bien en los leucocitos que en los eritrocitos. Los informes que mencionan que se presentan en eritrocitos pueden deberse a una confusión entre ellos y a etapas de infecciones coexistentes con *Plasmodium* spp., *Haemoproteus* spp. o ambas que sí parasitan a los eritrocitos (Lapage, 1983).

2.4 EPIDEMIOLOGÍA DEL PARÁSITO

La leucocitozoonosis es una enfermedad de mayor importancia en países tropicales que en países de clima templado (Volkmar, 1929). La presencia de *Leucocytozoon smithi* ha sido observada en Asia, África, Estados Unidos, Canadá, Francia y Alemania (Cordero, 1999). En los Estados Unidos ha sido reportado en Dakota, Minnesota, Nebraska, Texas, Missouri, Georgia, Florida, Arkansas, Mississippi, Alabama, Carolina del sur, Virginia, California y Pennsylvania. La distribución de *L. simondi* es de noreste y noreste medio de Estados Unidos y Canadá (Bermúdez, 2003).

La enfermedad no está presente en los meses de invierno (Volkmar, 1929) y las pérdidas de animales generalmente se dan en primavera, pero los problemas a causa del parásito se pueden dar en cualquier momento del año durante la temporada de la mosca negra (Soulsby, 1987). En territorios endémicos de Europa y zonas templadas del hemisferio norte, durante la primavera pueden observarse circunstancialmente pérdidas de patos, gansos y pavos jóvenes (Cordero, 1999).

Estados Unidos es el país que más ha sido afectado por la enfermedad, los brotes mayormente se presentan en los estados del sureste. Solo existen unos cuantos informes de la enfermedad en otros países. Sin embargo, es posible que la enfermedad sea más frecuente de lo que se cree ya que puede ser introducido a las aves acuáticas domésticas por medio de aves acuáticas migratorias (Davidson y Wentworth, 1992). Por otro lado, también existen otros factores que favorecen la transmisión de la enfermedad, como el número de gametocitos periféricos que es más alto durante las horas de mayor luz y mucho menor durante los períodos oscuros (Noblet, 1980) y las aves que se recuperan pueden mantener el parásito en la sangre por más de un año (Bermúdez, 2003).

En varios estados de EEUU se ha estudiado la epidemiología del *Leucocytozoon smithi* tanto en pavos domésticos como silvestres. Carolina del Sur, uno de los estados de mayor crianza comercial de pavos, presentó una prevalencia de 43% (Noblet, 1975). Así mismo, *L. smithi* se ha detectado en 289 de 357 pavos afectados en Georgia, 60 de 67 en Florida, 4 de 12 en Alabama y 7 de 9 en Carolina del Sur (Springer, 1997). En pavos silvestres adultos en 1972 la prevalencia del parásito fue de 36% en Arkansas, 72% en Florida y 100% en Virginia Oeste (Noblet, 1975). En 1986 en Arkansas se encontró *L. smithi* en un 33% e *H. meleagridis* en un 30% de pavos silvestres (Hopkins, 1990). La prevalencia de la infección en pavos silvestres en Carolina del Sur, Mississippi y estados del medio oeste fue de 100%, 33% y 3% respectivamente (Bermúdez, 2003).

La incidencia y la prevalencia de la enfermedad varían de año a año (Volkmar, 1929) pero en general, la prevalencia oscila aproximadamente entre 20% y 80% en los pavos domésticos y silvestres respectivamente (Soulsby, 1987). En la actualidad los brotes económicamente significativos de *L. smithi* son infrecuentes en Norte América. Esta situación probablemente se deba a la transición, al confinamiento de la producción de los pavos y en general a realizar la producción lejos de los lugares donde las moscas negras y los mosquitos sean abundantes (Bermúdez, 2003). Los lugares donde las aves han sido afectadas por el parásito son áreas con poco drenaje que facilitan la presencia del vector (Volkmar, 1929). Los brotes generalmente se presentan en las casetas cercanas a los arroyos lentos, lagos bajos o áreas pantanosas que facilitan la presencia del vector (Whiteman, 1983).

2.5 IMPACTO ECONÓMICO

L. smithi es responsable de extensas pérdidas económicas de productores de aves en el sureste de Estados Unidos, especialmente en los estados de Virginia, Carolina del Sur, Alabama y Nebraska. En 1952 en una granja de 100,000 pavos, las pérdidas por leucocitozoonosis fueron estimadas en 5%. Sin embargo, otro productor registró pérdidas tan altas como 54%, donde la mayoría fueron atribuidas a la leucocitozoonosis (Wehr, 1962). En general, las pérdidas están

relacionadas con la disminución del apetito, la puesta y la incubabilidad. Pero lo más importante es el aumento de la susceptibilidad a infecciones secundarias que hacen que los parámetros productivos de la producción bajen considerablemente (Cordero, 1999).

En el caso de *L. simondi*, este ha sido implicado en el mayor número de muertes de gansos del Refugio Nacional de Vida Salvaje de Seney en Canadá. Esta situación ocurre, aproximadamente, cada 4-5 años y se cree que es uno de los mayores factores limitantes para el crecimiento de la población de gansos de Seney (Herman, 1975).

2.6 GENERALIDADES DEL VECTOR

El vector transmisor de la leucocitoozoonosis es el *Simulium* sp. El nombre común del vector es “mosca negra”, mosquito o jején de los pavos. La mosca negra vista de perfil presenta detrás de la cabeza una protuberancia a manera de una joroba, motivo por el cual también se le llama mosquito búfalo (Butler y Hogse 1998). La transmisión del parásito a las aves susceptibles requiere la presencia obligatoria del vector, la mosca negra o simúlido. Se han realizado investigaciones inyectando sangre de un animal infectado a otro sano, sin resultados en la transmisión de la enfermedad (Wehr, 1962).

Las moscas negras son consideradas como el segundo mayor grupo de insectos que afecta la salud y la economía de los humanos (Adler *et al.*, 2004). La actividad hematófaga de esta familia está basada en que algunas hembras adultas son vectores de una variedad de patógenos como *Onchocerca*, *Leucocytozoon*, *Mansonella*, *Trypanosoma* y *Dirofiliaria* (Adler, 2005). En Norte América, la mosca negra afecta la salud animal causando su muerte por acción directa o indirecta en áreas infestadas severamente (Araújo-Coutinho *et al.*, 2005).

A pesar de los patógenos asociados, mucho del impacto negativo de la mosca negra no es debido a la transmisión de agentes de enfermedades si no mas bien al efecto de las picaduras en masa. En el hemisferio Norte, áreas devastadas se convirtieron en lugares deshabitados debido a la presencia de las moscas (Adler *et al.*, 2004). En los países tropicales las moscas negras han sido reconocidas como uno de los mayores problemas para el desarrollo económico (Hougard *et al.*, 1998).

2.6.1 TAXONOMIA

Clasificación de la mosca negra:

Phylum Insecta,

Orden Díptera,

Familia Simuliidae

Subfamilia Parasimuliinae

Simuliinae

Tribus Prosimuliini

Simuliini

Género *Simulium*

La más primitiva es la subfamilia Parasimuliinae. Las hembras de esta subfamilia no tienen pares bucales para picar. La subfamilia Simuliinae se divide en dos tribus la Prosimuliini y la Simuliini. La tribu Simuliini contiene las especies plaga más importante. El género más grande es el *Simulium* que contiene 41 subgéneros y muchas de las especies son de importancia económica (Crooskey, 2004).

2.6.2 MORFOLOGÍA

La mayoría de especies de moscas negras adultas miden de 1-5mm de largo, el tórax es marcadamente convexo y presenta el color entre gris y amarillo, la antena está dividida en 11 segmentos cortos y los ojos son grandes y redondos. El huevo es ovalado o triangular con ángulos redondeados, el color varía entre crema y blanco y mide de 0.1-0.4mm de largo. Los adultos se caracterizan por tener un cuerpo robusto pero pequeño, con antenas cónicas; el tórax es arqueado, de aquí salen las alas de color ahumado o hialino de 6-10mm de largo. La mayoría de las especies son de color negro pero algunos son amarillos y anaranjados. Los machos de todas las especies tienen ojos que ocupan toda la cabeza y se unen en la línea media (holópticos). Las hembras son más pequeñas y tienen los ojos separados (dicópticos) (Lyon, 1991).

2.6.3 CICLO BIOLÓGICO DE LA MOSCA NEGRA

Las moscas negras hembras son las únicas que se alimentan de sangre en cambio los machos se alimentan principalmente de néctar. Las moscas son atraídas por señales a distancia que emiten los hospedadores como olor y calor. La alimentación de los simúlidos es muy rápida y se ha observado que es mucho más activa con luz solar, temperatura es alta y viento ligero; es decir al amanecer (Butler y Hogse 1998). Las infestaciones generalmente se dan en los meses cálidos pero en general puede darse en cualquier época del año (Wehr, 1962).

Los daños que producen las moscas negras se inician con un corte en la piel de los animales para alimentarse de la sangre que fluye a través de esta. Además, inyectan anticoagulantes que causan medianas a severas reacciones alérgicas en hospederos sensibles. Se han reportados casos de muertes de animales domésticos por causa de grandes poblaciones de moscas y fuertes reacciones a las picaduras. Los simúlidos tienen preferencias dentro del amplio rango de especies hospedadores, cada especie de mosca prefiere un tipo de hospedero sobre otro. Las hembras adultas se alimentan de sangre de humanos, ganado, caballos, ovejas, cabras, aves de corral y aves y mamíferos silvestres (Butler y Hogse 1998).

El desarrollo de los estados inmaduros de la mosca negra está relacionada con la presencia de agua oxigenada, es decir, en movimiento constante. Los estados adultos se relacionan con fuentes de agua con bajo movimiento. El agua de lagos y estanques que no tienen movimiento son inconvenientes para el desarrollo de la mosca negra. En este sentido, *Simulium slossonae* prefiere ríos pequeños y con poco movimiento 1.5 pie/s, amplia vegetación y un pH 4.4 - 4.5, puede volar de 6-13 Km de los lugares de crianza en busca de hospederos, luego regresan a su hábitat para procrear y para la puesta de huevos (Butler y Hogse, 1998).

Las hembras depositan de 200-500 huevos y en algunos casos 800 huevos. Los huevos se prenden a las rocas, vegetación acuática u otros objetos sólidos que emergen de las orillas de los ríos. Los huevos típicamente no soportan la desecación, aunque varias especies pueden sobrevivir en las riveras secas de los ríos por varios años emergiendo de los huevos solo cuando llueve. Las larvas emergen de los huevos y se adhieren a las rocas y a la vegetación acuática, son de color marrón claro a negro, de forma cilíndrica, miden de 10-15mm de largo y son de actividad silenciosa (Lyon, 1991).

La mayoría de larvas son filtradoras y se alimentan de crustáceos, protozoos, algas, bacterias, partes de animales o plantas y materia orgánica en descomposición. Las larvas pasan por seis estados antes de llegar al estado pupal. La etapa de larva puede durar desde una semana a seis meses en promedio puede durar de 7-12 días dependiendo de la especie, temperatura del agua y la disponibilidad de alimento (Lyon, 1991; Butler y Hogse, 1998). El siguiente estadio es el de pupa, éstas se envuelven en un capullo de seda de 2-5mm de largo y de aquí emergen al estado adulto. La duración del estado de pupa depende de la especie y de la temperatura y va de varios días a varias semanas, en promedio 2-28 días (Lyon, 1991).

Los adultos que emergen viven un promedio de 2-3 semanas pero algunas a veces pueden llegar hasta 85 días. Los adultos vuelan de 12-18 Km. y llevados por el viento pueden alejarse más. El tiempo que dura el ciclo huevo-adulto es variable y depende de la especie y de la temperatura. En partes de África las moscas negras adultas hembras pueden viajar más de 40 millas de los lugares de crianza acuática para alimentarse. Por lo tanto, los problemas debido a la presencia de la mosca negra pueden darse a grandes distancias de su centro de origen (Butler y Hogse, 1998).

2.6.4 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La familia Simuliidae tiene una distribución mundial que se extiende de los trópicos a los círculos árticos, comprometiendo más de 1, 750 especies conocidas, muchas de las cuales son hematófagas (Araújo-Coutinho *et al.*, 2005). Además, es uno de los grupos de insectos acuáticos mejor conocidos taxonómicamente en América del Norte. En la región Neotropical, aunque se han descrito 319 especies, la riqueza de variedad de especies de la familia Simuliidae, todavía no se ha determinado (Hamada, 2001).

La variedad de la mosca negra de las zonas frías de América del Sur está compuesta por un pequeño número de especies del género *Simulium* y muchos géneros y especies de la tribu Prosimuliini. Los estudios de la mosca negra en estas regiones, muestra que aunque el género *Simulium* está representado por muchos grupos de subgéneros y especies en muchos de los casos no es el género dominante de moscas negras en estas zonas. En contraste, en las zonas calientes de América del Sur solamente se encuentran especies del género *Simulium*. Además, ninguno de los géneros del Prosimuliini encontrados en América Latina (México, Guatemala, Brasil y Chile) ha sido observado en Norteamérica ni en otro continente (Wygodzinsky, 1973).

El subgénero *Simulium Pternaspatha* se extiende desde Tierra del Fuego hasta algún punto de las grandes alturas de la Cordillera de los Andes, entre el centro del Perú y el norte de Ecuador. Posiblemente, el límite norte del subgénero coincide con el de la formación de la puna en la Cordillera. Los países que abarca este subgénero son Perú, Chile, Argentina y Bolivia (Wygodzinsky, 1972).

En general, los países donde se ha observado la mosca negra son Argentina, Australia, Brasil, Canadá, Chile, China, Estados Unidos, Gran Bretaña, India, Japón, México, Nueva Guinea, Perú, Rusia y Siberia (Crosskey R., 2004). Los Estados Unidos es el país que más ha sido afectado por la leucocitozoonosis, siendo el género *Simulium* el principal vector de la enfermedad (Butler y Hogse, 1998). Los estados de Georgia, Alabama, Missouri, Carolina del Sur y Florida son zonas afectadas por la leucocitozoonosis en pavos domésticos. La prevalencia de la enfermedad en

zonas bajas de Georgia y Florida es alta y se cree que la transmisión está relacionada con insectos acuáticos ya que en esta zona son abundantes los pantanos y charcos (Travis, 1939).

Existen estudios en diferentes países y regiones que han identificado las especies prevalentes. En este sentido, las más importantes que han sido identificadas como vectores del parásito en los países donde la enfermedad ha sido reportada, principalmente por Estados Unidos, son *Simulium occidentale* (*S. meridionale*), *S. jenningsi* (*S. nigroparvum*), *S. slossanae*, *Prosimulium hirtipes*, *S. congareenarum*, *S. aureum*. (Davidson y Wentworth, 1992).

En Carolina del Sur los picos de poblaciones de mosquitos han sido registrados a finales de julio, septiembre y octubre, y en Florida entre los meses de abril a noviembre pero en mayor cantidad entre julio y agosto. En Florida existen 18 especies diferentes de moscas negras, la principal es *Simulium slossanae* que se alimenta principalmente de sangre de aves sobre todo de pavos silvestres y domésticos, pollos y otras aves de corral. Es el principal vector de los protozoarios sanguíneos y transmisor natural de *Leucocytozoon smithi* en Florida. En este estado se han reportado varios casos de mortalidad debido a la mosca negra durante los tres primeros meses del año 1998 (Butler y Hogse, 1998).

En Perú, los lugares donde se han identificado especies de mosca negra son Ancash, Apurímac, Arequipa, Piura, Calca, Cusco, Junín, Lima, Huánuco, Puno y Tacna (Crosskey y Howard, 2004). Los géneros y especies de moscas negras observadas en los departamentos del Perú se muestran en el Apéndice 1.

2.7 PATOGÉNESIS

Leucocytozoon spp. es especialmente patogénico en aves jóvenes, sobre todo en aves menores a 12 semanas de edad. La mortalidad en pavos jóvenes infectados con *L. smithi* puede llegar a 90% debido a la anorexia, emaciación y extrema debilidad de los miembros. Los gansos y patos infectados con *L. simondi* pueden morir a las 24 horas de la exposición del parásito y, la mortalidad puede llegar en muchos casos al 100% (Davidson y Wentworth, 1992).

Los macrófagos albergan gran número de parásitos de diferente tamaño en sinusoides y venas que después migran a la circulación general. El daño hepático se inicia el día 14 de la exposición con una congestión de la pulpa roja debido a la presencia de numerosos parásitos y se exagera el día 18. Los parásitos de forma redonda y algunos alargados se observan en los alvéolos capilares entre los días 14-18 de la exposición. Los pulmones muestran una apariencia congestiva debido a la presencia de glóbulos rojos en los alvéolos capilares. Para el día 18 de la exposición el 50% del pulmón ha sido parasitado, luego disminuyen los parásitos a los 30 días posteriores de la infección (Siccardi, 1974).

Los cambios que ocurren en la célula parasitada son básicamente en el sistema reticuloendotelial. La reparación de cualquier daño en el sistema es fácil, rápido y no presenta signo alguno en el ave. En cambio, cualquier daño en la célula del sistema sanguíneo tiene consecuencias destructivas en la célula hospedadora y por lo tanto signos externos en el ave. Estos signos no se observan en el caso de *L. smithi* y que sí se dan en el caso del Paludismo Aviar (Volkmar, 1929). En un experimento se observó que existen diferencias cuantitativas en la hiperplasia linfocítica y presencia de parásitos en aves con diferente tiempo de exposición ante el parásito. La hiperplasia se inicia el día 6 y va aumentando el día 20 de la exposición (Siccardi, 1974).

En la patogenia es importante el daño directo debido a la destrucción de los hematíes parasitados, tanto en la médula ósea como en la sangre circulante. Así mismo, el daño indirecto es debido a la alteración molecular de los componentes, que da origen a una hemólisis intravascular y bloqueo capilar por microembolias, necrosis del hígado, bazo, pulmones, etc. Se han reportado casos de muerte a causa de obstrucción del sistema circulatorio por un gran número de parásitos (Cordero, 1999).

Las infecciones severas causadas por *L. smithi* parecen no ocurrir en pavos silvestres adultos. Los signos que se pueden observar son muy escasos, posiblemente por factores locales como la época en que los vectores son prevalentes y la edad de las aves a la primera exposición. Sin embargo, en las aves domésticas infectadas con el parásito disminuye la producción de huevos, el peso del huevo, incubación y ocurre una mortalidad mayor que las aves no infectadas. Generalmente hay pérdida del vigor, las aves que están sujetas a estrés pueden morir y los

machos muestran una reducida actividad de apareamiento (Bermúdez, 2003).

En los casos fulminantes los animales pueden morir a los dos o tres días después de haber aparecido los signos. Si no mueren, el proceso se hace crónico y se caracteriza por una tos persistente y bronquitis húmeda. Los animales que están completamente recuperados actúan como portadores por más de un año (Soulsby, 1987). Las aves que han sobrevivido a la enfermedad no están en riesgo ante el parásito (Springer, 1997).

2.8 SIGNOS CLÍNICOS

La mayoría de aves afectadas con leucocitozoonosis no muestran signos clínicos. Las aves que están visiblemente afectadas muestran de medianos a severos signos de anorexia, debilidad, somnolencia, depresión, anemia y palidez de las mucosas. Además, se observa emaciación, sed excesiva, dificultad en la respiración que se vuelve forzada, tortícolis, tendencia a permanecer sentado y algunas veces trastornos en la locomoción como tambaleo o marcha vacilante (Bermúdez, 2003).

Los estertores traqueales húmedos son comunes en casos crónicos y las aves hacen varios intentos para tratar de aclarar la garganta cada vez que se excitan. Algunas aves se tumban y quedan postradas con la cabeza, cuello y alas extendidas. A pesar que las aves afectadas aparecen somnolientas, si algo las hace moverse se excitan de sobremanera, pierden el equilibrio y pueden llegar a convulsionar (Davidson and Wentworth, 1992).

Las aves pueden morir durante el estado agudo de la enfermedad, al mismo tiempo de la ruptura de los megaloesquizontes o los esquizontes hepáticos. En el estado crónico pueden morir como resultado de la ruptura del crecimiento lento de los megaloesquizontes cerebrales. Los signos agudos pueden ser observados durante los últimos dos o tres días de la enfermedad, después, las aves mueren o comienzan a recuperarse (Wehr, 1952).

Se cree que la mortalidad de las aves adultas ocurre como resultado de la debilidad y el incremento de la susceptibilidad a infecciones secundarias. Los pavos domésticos infectados con *L. smithi*, disminuyen la producción de huevos, el peso del huevo, la incubabilidad y en algunos casos los machos pueden disminuir la actividad sexual. Además, hay una mayor tasa de mortalidad que en pavos no infectados (Bermúdez, 2003).

2.9 LESIONES

2.9.1 MICROSCÓPICAS

Existe una ligera inflamación del duodeno, que es la única lesión que se observa en aves jóvenes. Así mismo, se observa una neumonía congestiva por bloqueo de los alvéolos capilares por gametocitos maduros y una leve alteración del bazo por bloqueo capilar con acumulación de hemosiderina e hiperplasia linfocítica. En general, todos los tejidos muestran una evidencia leve de hiperplasia linfocítica relacionada al nivel de parasitemia. Además, se observa congestión de los pulmones, intestino delgado, hígado, bazo y riñones (Siccardi, 1973).

2.9.2 MACROSCÓPICAS

Evidencias de la leucocytozoonosis a la necropsia son la marcada emaciación, deshidratación, anemia, resequedad de los músculos e ictericia (Wehr, 1962). Además, se observa congestión de pulmones, intestino delgado, hígado, bazo y riñones. Otras lesiones observadas son hepatomegalia y esplenomegalia (Bermúdez, 2003). Por último, se puede observar puntos hemorrágicos en los músculos del pecho; en el sistema cardiovascular se observa aumento de la cantidad del líquido pericárdico y el músculo cardíaco se ve más pálido de lo normal (Davidson and Wentworth, 1992).

2.10 DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico de la leucocitozoonosis se deben observar las formas gametogónicas en sangre, para lo cual se utilizan extensiones de sangre y diversos métodos de coloración. Los métodos de coloración más usados son: la tinción de Romanowsky, la de Giemsa o la de azul cresil brillante, para hallar gametocitos (abundantes en primavera, pero escasos en invierno). Además, los esquizontes de *Leucocytozoon* se pueden identificar mediante impresiones de órganos (Cordero, 1999) o mediante el examen histopatológico de hígado, bazo y cerebro (Davidson and Wentworth, 1992).

Mediante la coloración de Giemsa, los macrogametos se observan con citoplasma azul oscuro y núcleo rojo y los microgametos con citoplasma azul muy pálido y el núcleo rosado pálido. Por otro lado, se observa que los microgamontes son más delicados y están sujetos a distorsión (Volkmar, 1929). En general, los gametocitos de *Leucocytozoon smithi* y *L. simondi* son muy similares (Springer, 1997). Como la mayoría de las aves están subclínicamente infectadas con *Leucocytozoon*, otras causas de muerte deben considerarse aún con la presencia de gametocitos en extensiones de sangre periférica. En este sentido, la enfermedad por *L. smithi* debe diferenciarse de otras enfermedades causadas por hemoparásitos como el *Haemoproteus* spp. y el *Plasmodium* spp (Davidson and Wentworth, 1992).

Existe una técnica de diagnóstico que utiliza el Ficoll y que fue diseñada para obtener los gametocitos enlongados de *L. smithi* de la sangre de los pavos. El Ficoll es un polímero de sacarosa de alto peso molecular (400000) que ha sido usado satisfactoriamente para separar células sanguíneas de aves. Las partículas celulares se colocan cuidadosamente en el Ficoll para su centrifugación, luego éstas migran y comienzan a ubicarse de acuerdo a su densidad. Las partículas aparecen en bandas horizontales que pueden ser extraídos con una aguja y jeringa (Henry, 1978).

Para detectar anticuerpos frente a la leucocitozoonosis en pollos, se ha desarrollado un método basado en la aglutinación en látex (LA). Esta técnica utiliza un antígeno de membrana externa de la segunda generación de esquizontes de *L. caulleryi*. En comparación con la técnica de precipitación en agar gel, que se usa ampliamente en Japón, la LA tiene mayor sensibilidad. Se ha demostrado que este método es simple, rápido y útil para detectar anticuerpos frente a *L. caulleryi* (Ito y Gotanda, 2005).

2.11 TRATAMIENTO

Para el tratamiento se ha recomendado el uso de la sulfaquinoxalina, aunque su eficacia no ha sido comprobada (Soulsby, 1997). Las sulfamidas potenciadas a razón de 15 partes de sulfamonometoxina y 4 de ormetropin, 4 ppm/en pienso/varias semanas, la pirimetamina a razón de 1 ppm mejora la clínica y con 25 ppm es curativa y la furazolidona a dosis de 150 ppm, han sido usadas satisfactoriamente (Cordero, 1999).

Diversas investigaciones indican que el clopidol puede ser útil en el control de la leucocitozoonosis en aves domésticas y silvestres acuáticas. También se ha usado satisfactoriamente en pavos domésticos. El clopidol fue eficaz cuando fue adicionado en el alimento de los pavos a una dosis de 0.025% a 0.0125% durante 14-16 semanas (Whiteman, 1983).

2.12 PREVENCIÓN Y CONTROL

El confinamiento de los pavos en albergues a prueba de mosquitos, protege completamente a las aves contra la enfermedad de la leucocitozoonosis. Este método es caro y sólo puede ser recomendado en áreas donde la enfermedad es prevalente. Para ello, es necesario bloquear todas las aberturas del lugar para excluir completamente a los insectos (Wehr, 1962). En las zonas enzoóticas, la prevención no ha tenido éxito con la cría de parvadas en casetas bien protegidas con mallas, ni con programas de control de moscas negras y jejenes (Whiteman, 1983).

Las pérdidas económicas se podrían reducir grandemente, mediante la protección de las aves hasta que éstas lleguen a una edad suficiente como para tolerar la infección (mayor a 12 semanas). Los pavos adultos sirven como portadores del parásito y son los grandes responsables de la perpetuación de la enfermedad año tras año (Wehr, 1962). En este sentido, es importante tener a las aves distribuidas por edades para prevenir la transmisión de adultos portadores a aves libres del parásito (Davidson y Wentworth, 1992).

En general, para el control de la enfermedad ocasionada por diversas especies de *Leucocytozoon*, se debe evitar criar a las aves domésticas en lugares propicios para el desarrollo de las moscas negras o jejenes o en donde la leucocitozoonosis sea enzoótica. Las aves silvestres de la zona y del mismo tipo como los pavos, los patos y los gansos silvestres, también pueden actuar como portadores (Whiteman, 1983).

En aves domésticas el control está dirigido a erradicar o reducir el número de vectores. Puede ser útil tratar o desaguar los ríos que sirven como su lugar de crecimiento. La mosca negra puede mantenerse alejada mediante el uso de insecticidas, repelentes o mallas protectoras que impidan el ingreso del vector a la granja (Wehr, 1962).

El control de las moscas negras es difícil debido al gran número de lugares de cría. La capacidad de las hembras de migrar y usar los ríos como lugar de crianza de las moscas, limita el uso de pesticidas químicos para el control de poblaciones de moscas. Sin embargo, se ha obtenido resultados satisfactorios con el tratamiento de los ríos con el producto natural *Bacillus thuringiensis* var. *Israeliensis* (*Bti*) (Butler y Hogse, 1998).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ANIMALES

Para el estudio se uso sangre de pavos aparentemente sanos.

3.2 LUGAR DE EJECUCIÓN

Las muestras de sangre fueron tomadas en granjas comerciales de engorde de pavos, ubicadas en la costa del departamento de Lima y de pavos que llegaron al Laboratorio de Patología Aviar durante la campaña del 2006. Los frotis de sangre fueron procesados y examinados en el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.3 TAMAÑO DE MUESTRA

La cantidad de animales muestreados se obtuvo mediante la fórmula de Prevalencia Límite (Ahlbom y Norell, 1990):

$$n = \frac{\text{Log}(1 - \text{confianza})}{\text{Log}(1 - p)}$$

n = 298

Donde:

p = Prevalencia límite (1%)

n = Tamaño de muestra

Confianza = 95%

Se obtuvo como tamaño de muestra 298 animales, pero se muestreó en total 346 animales.

Tabla 1. Numero de los animales muestreados por edad (semanas)

EDAD (SEMANAS)	NUMERO DE ANIMALES
1	20
2	31
4	13
5	10
6	10
7	10
8	26
9	15
10	15
11	30
12	36
13	80
14	30
17	20
TOTAL	346

Tabla 2. Numero de los animales muestreados por lugar

LUGAR	NUMERO DE ANIMALES
CHILCA	161
G1	40
G2	30
G3	56
G4	35
ASIA	67
VENTANILLA	15
LURIN	53
G1	30
G2	23
VILLA MARIA	10
LA MOLINA	20
SAN BORJA	20
TOTAL	346

3.4 CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

Los animales fueron tomados al azar. Los frotis se realizaron con sangre fresca, en la misma granja donde se encontraban los pavos. Esto fue debido a la interacción que tienen los anticoagulantes con el colorante que no permite que las células se tiñan adecuadamente. Se obtuvieron cuatro láminas por animal; se identificó cada una con el lugar de procedencia, edad y fecha de muestreo y se guardaron hasta su procesamiento.

3.5 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

La sangre se obtuvo por punción de la vena alar con agujas hipodérmicas de 26x1. Se usaron portaobjetos nuevos y tratados con alcohol. Se tomó un primer portaobjetos y se colocó una pequeña gota de sangre en uno de sus extremos. Inmediatamente, se colocó uno de los extremos de un segundo portaobjetos en un ángulo de 35-40°, cerca de la mitad del portaobjetos que contenía la gota de sangre. El segundo portaobjetos se deslizó a través de la superficie del primero, hasta que tomó contacto con la gota de sangre (cuando hace contacto con la gota, ésta se dispersa rápidamente a lo largo de la unión de los dos portaobjetos). El segundo porta se deslizó suave pero rápidamente a lo largo de la superficie del primer portaobjetos y se dejó que la muestra se secara al medio ambiente, obteniéndose un extendido uniforme. Luego, las 4 muestras se fijaron en metanol pero solo 2 se tiñeron y las restantes fueron guardadas como reserva.

3.6 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Para el procesamiento de las muestras se siguió el protocolo descrito por el Instituto Nacional de Salud (INS). Las láminas se fijaron con metanol absoluto durante 5 minutos, luego se dejó secar al medio ambiente. La tinción que se utilizó fue Azul de Metileno Giemsa. Las láminas que ya estaban fijadas con metanol se cubrieron completamente con el colorante y se esperó durante 30 minutos. Luego las láminas se aclararon con agua corriente hasta que el agua se observó transparente y por último se secó al ambiente. Las extensiones se examinaron mediante un

microscopio óptico, primero a 25X, luego a 40X y a 100X.

3.6.1 MATERIAL

Materiales

- Láminas portaobjetos
- Agujas hipodérmicas 26x1
- Guantes de látex
- Marcador de vidrio
- Caja porta láminas
- Cintas para medir el pH
- Pipetas de 1, 5 y 10ml
- Láminas cubreobjetos

Reactivos

- Metanol absoluto
- Giemsa en polvo
- Glicerina
- Aceite de inmersión
- Alcohol 95%
- Fosfato dibásico de sodio Na_2HPO_4
- Fosfato ácido básico de sodio NaH_2PO_4
- Agua destilada

3.6.2 SOLUCIONES

La preparación de las soluciones se explica en detalle en el Apéndice 2

3.7 LECTURA DE LÁMINA

El primer examen que se realizó fue la identificación de las células típicas normales del ave, como son los eritrocitos y los leucocitos, que son peculiares en esta especie. Luego se observaron

las posibles células con cambios estructurales ya sea por enfermedad, inmadurez o en regresión. Por último, se buscaron las posibles formas parasitarias de *L. smithi*, tanto dentro de los eritrocitos como en los leucocitos. Los frotis fueron observados con el objetivo de inmersión de 100x con un mínimo de 30 minutos por lámina cambiando constantemente los campos. Este método es válido para *Leucocytozoon* y *Haemoproteus*, pero no para otros parásitos sanguíneos como *Trypanosoma*, *Plasmodium* y especies de microfilaria (Tome *et al.*, 2005)

3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los valores encontrados, se ordenó en grupos según la edad y lugar de la muestra. Por edades se ordenó en tres grupos de acuerdo a la susceptibilidad de las aves a la enfermedad en 1-4, 5-8 y 9-17 semanas y por lugares se distribuyeron en tres zonas: Norte (Ventanilla), Centro (San Borja, Villa María y La Molina) y Sur (Lurín, Chilca y Asia).

Estos datos fueron ingresados a un programa que emplea simulaciones estocásticas de la distribución beta (@Risk® de Paladise Corp.Ltda) en el entorno de una planilla Excel XP®. Los valores de cada variable (zona de procedencia y edad) ingresaron al modelo de distribución con 3000 repeticiones de los eventos mencionados. De esta manera se calculó el intervalo donde se distribuye la prevalencia con una confianza del 90% y la prevalencia media para cada distribución.

La distribución beta considera dos parámetros (v y ω) que son el número de éxitos (positivos) de un total de n eventos (v) y el número de fracasos (negativos) denotados como (ω). Estos parámetros definen la distribución beta y se denotan como $\beta(\omega, v)$. Ésta es una función de probabilidad, de manera que podríamos multiplicar la función de probabilidad por el número de eventos para tener la distribución de número de éxitos.

$$[\beta(\omega, v)] * [n]$$

Del mismo modo, se puede obtener la distribución de las prevalencias $f(p)$ si al número esperado de éxitos se le divide por el número total de muestras n , de manera que tendríamos:

$$f(p) = \frac{[\beta(\omega, v)] * [n]}{n}$$

IV. RESULTADOS

En este trabajo se muestreó un total de 346 aves de corral de 5 distritos de Lima y alrededores. Mediante los frotis sanguíneos utilizados para encontrar el hemoparásito responsable de la enfermedad se obtuvo que todas las muestras resultaron negativas (0/346). La distribución según el origen y la edad del animal aparecen en las tablas 3 y 4.

Tabla 3. Distribución de las muestras de acuerdo a la edad

EDAD (SEMANAS)	MUESTRAS OBTENIDAS	POSITIVOS
1-4	64	0
5-8	55	0
9-17	227	0
TOTAL	346	0

Tabla 4. Distribución de las muestras de acuerdo a la procedencia

ZONA	MUESTRAS OBTENIDAS	POSITIVOS
NORTE	15	0
CENTRO	49	0
SUR	282	0
TOTAL	346	0

Estos valores, epidemiológicamente hablando, nos indican que no se puede negar la existencia de la enfermedad. Sin embargo, si se puede afirmar que en caso que existiese, la prevalencia se encuentra por debajo del 1% (prevalencia de límite central). Por lo que los valores fueron ingresados al programa @Risk®, el cual calculó una prevalencia media y la distribución de la prevalencia al 90% de confianza. Las tablas 5 y 6 presentan los valores respectivos según la edad y el lugar de procedencia.

Tabla 5. Rango de probabilidades donde se distribuye las prevalencias para cada edad al 90% de confianza

EFFECTO DE LA EDAD				
SEMANAS	TOTAL	PREVALENCIA MEDIA	IC 90%	
			MÍNIMO	MÁXIMO
1-4	64	0.0221165	0.000787	0.045020
5-8	55	0.025568	0.000914	0.052050
9-17	227	0.006409	0.000223	0.013041

Tabla 6. Rango de probabilidades donde se distribuye las prevalencias para cada zona al 90% de confianza

EFFECTO DEL LUGAR				
ZONA	TOTAL	PREVALENCIA MEDIA	IC 90%	
			MÍNIMO	MÁXIMO
NORTE	15	0.083659	0.003183	0.170501
CENTRO	49	0.0285295	0.001023	0.058082
SUR	282	0.005174	0.000181	0.010529

En las figuras 1 y 2 se puede observar más claramente que la distribución de todos los grupos son similares, por tanto la diferencia que se encuentra en los valores medios de estas distribuciones están atribuidas al azar.

Figura 1. Distribución de la probabilidad de la prevalencia de la Leucocitozoonosis para la totalidad de muestras según el efecto de la edad.

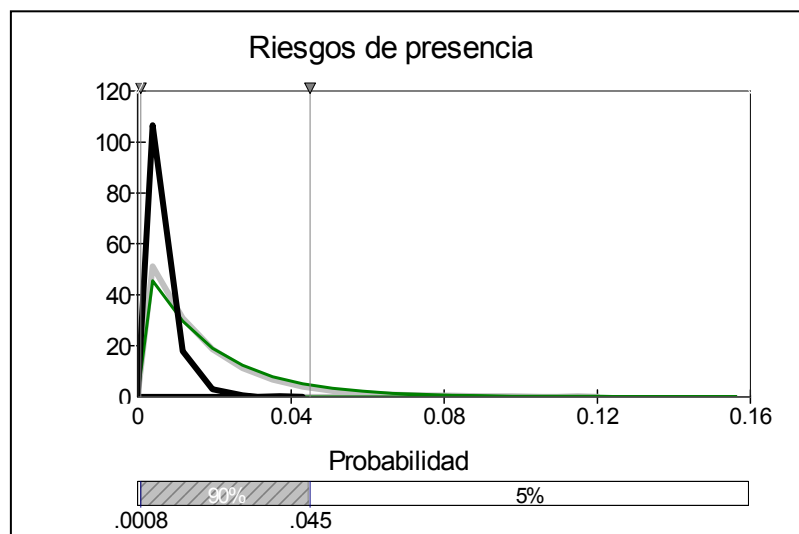
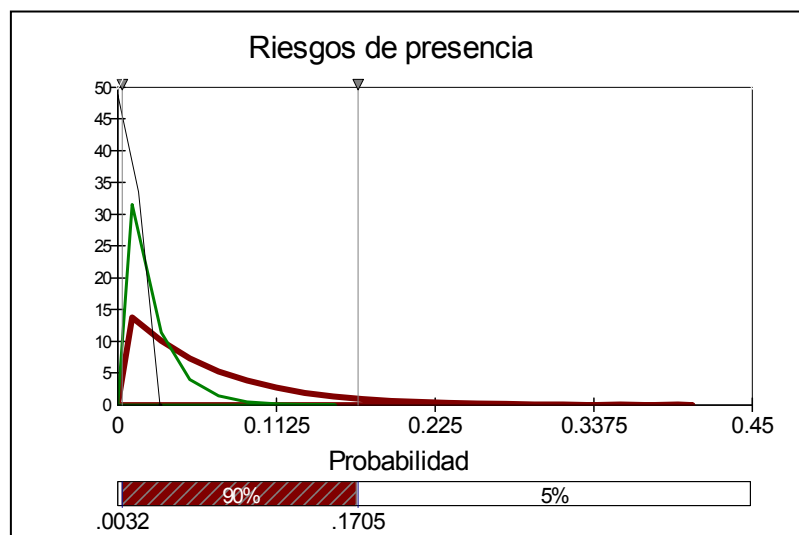


Figura 2. Distribución de la probabilidad de la prevalencia de la Leucocitozoonosis para la totalidad de muestras según el efecto del lugar.



V. DISCUSIÓN

En general, sólo existen unos cuantos informes de la enfermedad por *Leucocytozoon* spp. en otros países. En los EEUU es común la presencia del *Leucocytozoon smithi* en pavos de crianza industrial y traspatio. Por otro lado, se ha reportado que el *Leucocytozoon simondi* puede ser introducido a las aves acuáticas domésticas por medio de aves acuáticas migratorias (Davidson and Wentworth, 1992).

La enfermedad no ha sido reportada en el Perú ni en otros países de Latinoamérica. Sin embargo, en las Islas Galápagos del Ecuador, debido a que el hospedador vector se encuentra presente y aún cuando no ha sido reportada la enfermedad, existe un programa de vigilancia para hemoparásitos protozoos como el *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*, en el cual las aves domésticas y silvestres son monitoreadas (Gottdenker, *et al*; 2005).

El potencial de transporte y transmisión de ciertos microorganismos patogénicos por las aves de vida libre, incluyendo las migratorias, es de gran importancia. Las aves migratorias pueden estar involucradas en la diseminación de bacterias, virus, hongos y protozoos. Los protozoos transmitidos por las aves migratorias pertenecen a la familia Haemosporina y dentro de ésta tenemos al *Leucocytozoon simondi*, *Haemoproteus* spp. y *Plasmodium relictum*, *P. circumflexum* y *P. vaughani* (Huba'lek, 2004). Las palomas son una de las principales especies de aves vectores de enfermedades, ellas pueden transportar *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, *Toxoplasma* y *Trichomonas* (Waldorf, 2000).

Los humedales ofrecen a las aves acuáticas refugio y alimento, y entre las funciones ecológicas sirven a la nidificación, a la alimentación y son importantes sitios de concentración durante la migración anual de aves (López-Lanús y Blanco, 2005). En el Informe anual del Censo Neotropical de Aves Acuáticas 2005 se encontró en los Humedales de Puerto Viejo (Mala) un total de 1,363 aves acuáticas pertenecientes a 25 especies diferentes de aves. Estas aves son residentes o migratorias, de las Zonas altoandinas, del Norte de América o el sur del continente (Acuy, M. y V. Pulido., 2006). En general cerca de 200 especies de aves migratorias llegan o

pasan por el Perú (González, 2007). Ninguna de las aves silvestres de los Humedales de Puerto Viejo pertenecen a la familia Phasianidae, dentro del cual se encuentra el pavo *Meleagris gallopavo* (Tabla 8 y 9).

El género *Simulium* vector de la *Leucocytozoonosis* está presente en nuestro país. Sin embargo, las especies de este vector que se encuentran en el Perú, no han sido reportadas como causantes de la enfermedad. La presentación del vector se da mayormente en temporadas de calor como verano y primavera, además se encuentra principalmente en zonas cercanas lagos, lagunas ríos, riachuelos, estanques etc (Butler y Hogse 1998). En este sentido, es factible que el vector esté presente en las granjas de la zona sur de Lima, especialmente en Chilca, pues se encuentra cercana a lagunas de aguas medicinales.

En los meses de junio y agosto del 2005 fueron remitidos a los Laboratorios de Patología Aviar; Histología, Embriología y Patología Veterinaria (LHEPV) de la FMV – UNMSM, cortes de bazo, hígado, riñón y proventrículo fijados en formol al 10%, pertenecientes a pavos de 14 días de edad procedentes de Chilca. Los tejidos fueron evaluados histológicamente y se reportó reacciones inflamatorias hemorrágicas asociadas a parásitos. Posteriormente, se remitieron 14 pavos de 10 días de edad al Laboratorio de Patología Aviar de la FMV-UNMSM procedentes de una granja en Asia que presentaban mortalidad. A la necropsia se pudo observar el bazo hemorrágico y moteado, los intestinos hemorrágicos, congestionados y con contenido bastante mucoso. También, se remitieron cortes de intestino, bursa, bazo y proventrículo formolizados para su evaluación histopatológica. El diagnóstico histopatológico mostró una severa esplenitis hemorrágica difusa aguda asociada a parásitos, leve enteritis catarral difusa aguda y severa depleción linfocitaria esplénica. Las estructuras compatibles con parásitos mostraban las mismas características del caso procedente de Chilca.

Un tercer caso constó de 6 pavitos vivos y 6 pavitos muertos de 20 días de edad procedentes de Chilca. El número total de animales de la granja fue de 80000, con un 10% de animales afectados. Los signos clínicos observados fueron postración y muerte. Los hallazgos de necropsia fueron bazos hemorrágicos moteados, intestinos e hígado congestionados, pulmón hemorrágico, nefrosis, hepatitis y posibles uratos. Las muestras remitidas para la evaluación

histopatológica fueron hígado, intestino, riñón, bazo y proventrículo. El diagnóstico histopatológico fue severa esplenitis necrótica hemorrágica difusa asociada a parásitos, severa depleción linfoide, moderada hiperplasia de conductos biliares y moderada enteritis catarral difusa aguda. Las estructuras compatibles con parásitos mostraban las mismas características del caso procedente de Chilca y Asia.

En agosto del 2006, se hizo una cuarta remisión la cual constaba de 10 pavitos de 15 días de edad procedentes de Chilca. Los hallazgos de necropsia fueron esplenomegalia, hígado congestionado y ligeramente agrandado. Se realizó un cultivo bacteriológico pero salió negativo. Se enviaron tres frascos con muestras de hígado y bazo para su evaluación histopatológica. El diagnóstico histopatológico fue moderada hepatitis necrótica difusa aguda asociada a protozoos, severa depleción linfoide y hemorragia esplénica asociada a protozoos, leve hepatitis necrótica difusa aguda asociada a protozoos y severa hepatosis grasa con proliferación de conductos biliares. Las estructuras compatibles con parásitos observadas en los tejidos afectados fueron similares en los cuatro casos, por lo que todos estos hallazgos hicieron sospechar fuertemente, de la presencia de *Leucocytozoon smithi* en los pavos remitidos (Apéndice 4).

El ciclo biológico del *Leucocytozoon smithi* se inicia después de la inoculación de esporozoitos en la sangre por el vector, de ahí éstos se dirigen al hígado para finalmente formarse los merozoitos y posteriormente los gametocitos, forma parasitaria que se encuentra en eritrocitos y leucocitos. Es extraño no haber encontrado formas parasitarias en la sangre de los pavos examinados en el presente estudio, ya que los gametocitos persisten circulando en sangre hasta por un año (Bermúdez, 2003). Después de la medicación, los casos compatibles con la enfermedad disminuyeron notablemente pero no llegaron a desaparecer por completo, por ello se pensó encontrar muestras positivas.

El clopidol es un medicamento que se da en el alimento como rutina para la prevención de la presentación de la coccidiosis en los pavos y se usa en el porcentaje de 0.0125-0.0250%, además también ha sido recomendado para el tratamiento de la leucocytozoonosis (Bermúdez, 2003). El clopidol actúa a nivel de los esporozoitos y trofozoitos, interfiere en la absorción de hipoxantinas e inhibe el metabolismo energético en el sistema citocromo, evitando así que el ciclo biológico

se complete impidiendo la formación de gametocitos (Ilender, 2000). La mayoría de pavos del presente estudio estuvieron medicados con Clopidol, siendo probable que por esta causa no se hayan encontrado formas parasitarias en sangre. En este sentido, es muy probable que haya sido necesario realizar exámenes histopatológicos al mismo tiempo que los frotis sanguíneos. Sin embargo, esta es una situación un poco delicada, pues cuando no existen problemas en una granja comercial de pavos, que se comercializan por campaña, es sumamente difícil sacrificar un número elevado de animales.

La importación de pavos que el Perú viene realizando en los últimos años, es de los países vecinos de Chile y Brasil. Las importaciones son de huevos fértiles (para reproductores y pavitos comerciales), pavitos bebe y carne de pavo (fresco, refrigerado y congelado) (MINAG, 2006). Sin embargo, a pesar que el vector está presente en estos países, la leucocitozoonosis no ha sido reportada, por lo que la presentación de la enfermedad en nuestro país a partir de estos animales importados es poco factible. Además, los huevos fértiles, pavitos bebe y carne de pavo no son un medio de transmisión del parásito. Para que el parásito ingrese al ave es necesario el contacto del ave con el vector, y en este caso, los huevos fértiles y pavitos bebe no están en contacto con éste, debido a la extrema bioseguridad que requiere esta etapa de crianza.

Otros portadores de la enfermedad podrían encontrarse en los zoocriaderos pero según la lista elaborada por el INRENA (2005), su presencia no ha sido reportada en los alrededores de las granjas de pavos de donde las muestras fueron tomadas. Sin embargo, debemos considerar la crianza casera de aves de traspatio que realiza la población rural en los alrededores de las granjas comerciales de pavos, como un lugar probable de reservorio del parásito.

Uno de las limitantes para el desarrollo del presente trabajo fue no conseguir un mayor número de animales de 1-8 semanas de edad de las zonas norte y centro, debido que la mayor parte de la producción se realiza en la zona sur de Lima en donde la crianza de pavos se realiza durante todo el año. En las zonas norte y centro sólo se encuentran pequeños productores que crían pavos una vez al año, por eso en estas zonas sólo se analizaron pavos de una sola determinada edad.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- No se encontraron gametocitos de *Leucocytozoon smithi* en sangre de ninguno de los pavos examinados que fueron clínicamente sanos.
- El parásito no se encuentra presente en poblaciones aparentemente sanas y de estarlo lo está en una prevalencia menor al 1%.
- Para contar con un reporte que demuestre la presencia de la enfermedad en pavos del Departamento de Lima, se requiere realizar un nuevo estudio con sangre y tejidos de aves clínicamente afectadas o recién muertas con sospecha de la enfermedad.

VII. LITERATURA CITADA

- Acuy Yánac, M.; V. Pulido Capurro. 2006. Perú: informe anual. Censo Neotropical de Aves Acuáticas 2005. En López-Lanús B. y D.E. Blanco (eds.): El Censo Neotropical de Aves Acuáticas 2005; Una herramienta para la conservación. Wetlands International, Buenos Aires, Argentina.
<http://www.wetlands.org/LatinAmerica/Sp/getfilefromdb.aspx?ID=bfc12933-87b3-42e5-b58f-34cb09f0c7c0>
- Adler, P. H. 2005. Black flies, the Simuliidae. p127-140. In W. C. Marquardt (ed.). Biology of Disease Vectors, 2nd edition. Elsevier Academic Press, San Diego, CA.
- Adler, P. H.; D. C. Currie; D. M. Wood. 2004. The black flies (Simuliidae) of North America. Cornell University Press, Ithaca, NY.
<http://biology.creighton.edu/faculty/brockhouse/SimuliumWhitePaper.pdf>
- Ahlbom, A.; S. Norell. 1990. Introduction to modern Epidemiology. 2° ed. p24-29. Epidemiology Resource Inc. USA.
- Allan, R. A.; J. L. Mahrt. 1989. Influence of Transmission Period on Primary and Relapse Patterns of Infection of *Leucocytozoon* spp. and *Haemoproteus mansonii*. American Midland Naturalist, Vol. 121(2). p341-349. <http://links.jstor.org/sici?sici=0003-0031%28198904%29121%3A2%3C341%3A%3A%3E2.0.CO%3B2-O>
- Araújo-Coutinho, C.; R. Figueiró; A. Viviani; E. Nascimento; C. Cavados. 2005. A Bioassay Method for Black Flies (Diptera: Simuliidae) Using Larvicides. Neotropical Entomology, Río de Janeiro 34(3):511-513. <http://www.scielo.br/pdf/ne/v34n3/24721.pdf>

- Bermúdez, A. 2003. Miscellaneous and Sporadic Protozoal Infections. In: Diseases of Poultry. 11 th Ed. Y.M. Saif; C.W. H.J. Barnes, J.R. Glisson, A.M. Fadly, L.R. Mc Dougald, D.E. Swayne. Iowa State. University Press. Ames. p1010-1013.
- Butler J. F.; J. A. Hogse. 1998. Black Flies, *Simulim* spp. Entomology and Nematology Department, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu/in157>
- Cordero del Campillo, M. 1999. Parasitología Veterinaria. Ed. 1°. Editorial Interamericana. España. p816.
- Cook, R. S. 1971. Leucocytozoon Danilewsky 1890. Infectious and Parasitic Diseases of Wild birds. The Iowa State University, Ames, Iowa: 291-299.
- Crone, O. et al. 2001. Haemosporida of Birds of Prey and Owls from Germany. Acta Protozoológica 40: 281-289. <http://www.nencki.gov.pl/pdf/ap/ap575.pdf>
- Crosskey, R.; Howard, T. 2004. A Revised Taxonomic and Geographical Inventory of World Blackflies (Diptera: Simuliidae). Department of Entomology.
http://www.lamolina.edu.pe/profesores/wdale/ent_med_vet/2/PLAGAS%20PESTS%20M%C3%89DICAS%20VETERINARIAS.%20SIMULIDOS%20O%20JERJELES.%20VERSI%C3%93N%2001.T04.%20WILLIAM%20E.%20DALE%20PHD.pdf
- Davidson, W. R. & E. J. Wentworth. 1992. Population influences: Diseases and parasites. In *The Wild Turkey Biology and Management*: 101-118. Dickson, J. G. (Ed.). Harrisburg, PA: Stackpole Books. p463.
- Dick, J. 1978. Persistencia de los gametocitos en la sangre periférica del pavo. Avian Diseases Vol. 22(1). p82-85. <http://links.jstor.org/sici?sici=00052086%28197801%2F03%2922%3A1%3C82%3ALSPOGI%3E2.0.CO%3B2-A>

- Gill, Hagit; Ilan Paperna. 2005. Leucocytozoonosis in the Israeli sparrow, *Passer domesticus biblicus* Hartert 1904. Journal of Parasitology Vol. 96(6). p543-544.

- González Medina, O. 2007. Ecología de Aves Migratorias. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA).
http://www.senasa.gob.pe/influenza_aviar/Curso_Vigilancia_Influenza_Aviar_en_Aves_Silvestres/Ecologia_de_aves_migratorias.pdf

- Gottdenker, N.; T. Walsh; H. Vargas; J. Merkel; G. Jiménez; E. Miller; M. Dailey; P. Parker. 2005. Assessing the risks of introduced chickens and their pathogens to native birds in the Galápagos Archipelago. Biological Conservation 126: 429-439.
http://www.wildcru.org/aboutus/people/vargas_pdfs/Chicken%20paper.pdf

- Greiner, E.; Forrester, D. 1979. Prevalencia de esporozoitos de *Leucocytozoon smithi* en las moscas negras de Florida. Journal of Parasitology Vol. 65(2). p324-326.
<http://links.jstor.org/sici?sici=0022-3395%28197904%2965%3A2%3C324%3APOSOLS%3E2.0.CO%3B2-7>

- Hamada, N.; M. Grillet. 2001. Black flies (Diptera: Simuliidae) of the Gran Sabana (Venezuela) and Pacaraima Region (Brazil): Distributional data and identification keys for larvae and pupae. Boletín de Entomología Venezolana, Caracas 16(1): 29-49.
http://www.entomotropica.org/v16_1/entrop1601art004.pdf

- Henry, C.; Dick, J. 1978. Separación de gametocitos de *Leucocytozoon smithi* de la sangre periférica de los pavos. Avian diseases Vol 22(3). p542-546.
<http://links.jstor.org/sici?sici=0005-2086%28197807%2F09%2922%3A3%3C542%3ASOGOLS%3E2.0.CO%3B2-78>

- Hopkins, B.; Skeeles, J.; Houghten, G.; Siagle, D.; Gardner, K. 1990. Estudio de enfermedades infecciosas en pavos silvestres (*Meleagris gallopavo*) de Arkansas. Journal of wildlife diseases 26(4). p468-472.

- Herman, C.; J. Barrow; B. Tarshis. 1975. Leucocitozoonosis in Canada geese at the Seney National Wildlife Refuge. *J. Wildl. Mgmt.*, Laurel 11: 406-411.
<http://www.jwildlifedis.org/cgi/reprint/11/3/404.pdf>
- Hougard J-M.; Agoua H.; Yaméogo L.; Akpoboua KLB; Sékétéli A.; Dadzie KY. 1998. Blackfly control: what choices after onchocerciasis? *World Health Forum* 19, 281-284.
<http://biology.creighton.edu/faculty/brockhouse/SimuliumWhitePaper.pdf>
- Huba'lek, Zdenek. 2004. An Annotated Checklist of Pathogenic Microorganisms Associated with Migratory Birds. *Journal of Wildlife Diseases*. 40(4): 639-659.
<http://www.jwildlifedis.org/cgi/reprint/40/4/639.pdf>
- ILENDER. 2000. Notas Científicas. Coccidiosis Aviar: Problema de todos los días.
<http://www.ilender.com.pe/servicios/publicaciones/notas/coccidia.pdf>
- Instituto Nacional de Recursos Naturales (INRENA). 2005. Relación de Zoocriaderos.
http://www.inrena.gob.pe/iffs/fauna/iffs_zoocriaderos.htm
- Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos de Laboratorio para el Diagnóstico de la Malaria. Series de Normas Técnicas N°39. Lima: MINSA-INS; 2003.
http://bvs.minsa.gob.pe/archivos/INS/163_malaria.pdf
- Ito Akira; Gotanda Tohru. 2005. A rapid assay for detecting antibody against leucocitozoonosis in chickens with a latex agglutination test using recombinant R7 antigen. *Avian Pathology*. Vol. 34(1). p15-19.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=15763734&opt=Abstract
- Kocan, A.1978. The fine structure of elongate gametocytes of *Leucocytozoon ziemanni*. The *Journal of Parasitology* 64(6). The American Society of Parasitologists. p1057-1059.
<http://links.jstor.org/sici?sici=0022-3395%28197812%2964%3A6%3C1057%3ATFSOEG%3E2.0.CO%3B2-A>

- Lapage, G. 1983. Parasitología Veterinaria. Ed. 1°. Edt. Continental. p658-660.
- Lyon William; Road Kenny. 1991. Black Flies. <http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/2000/2167.html> (25 de marzo 2007)
- López-Lanús, B.; D. Blanco. 2005. El Censo Neotropical de Aves Acuáticas 2004. Buenos Aires, Argentina. Wetlands Internacional. <http://www.wetlands.org/LatinAmerica/Sp/index.aspx>
- Ministerio Nacional de Agricultura. 2006. INFORME ESPECIAL: “El Abastecimiento de carne de pavo están garantizados para esta navidad”. http://www.minag.gob.pe/dgpa1/ARCHIVOS/noticia_0007.pdf
- Noblet, R.; Moore, S. 1975. Prevalencia y distribución de *Leucocytozoon smithi* y *Haemoproteus meleagridis* en pavos silvestres de Carolina del Sur. Journal of Wildlife Diseases. Vol. 11. Octubre. p516-518.
- Noblet, R. 1980. Efectos en los horarios de alimentación sobre la periodicidad diurna de los gametocitos de *Leucocytozoon smithi* en la sangre periférica de pavos domésticos. Journal of Protozoology. Vol. 27 (2). Mayo. p190-192
- Olsen, W. 1977. Parasitología Animal. Edición 1°. Editorial Aedos. España. p220-226.
- Siccardi, F.; Rutherford, H.; Derieux, W. 1974. Patología y prevención de la infección de *Leucocytozoon smithi* en pavos. In Avian Diseases Vol. 18(1). p21-32. <http://links.jstor.org/sici?sici=0005-2086%28197401%2F03%2918%3A1%3C21%3APAPOLS%3E2.0.CO%3B2-2>
- Soulsby, E. 1987. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los animales domésticos. Ed. 7°. Edit. Interamericana. México. p 823.

- Springer, W. T. 1997. Protozoa: Other blood and tissue protozoa. In: Diseases of Poultry. 10th Ed. B.W. Calnek; C.W. Beard; H.W. Yoder; W.H Reid and H.J. Barnes (eds). Iowa State University Press. Ames. p900-911.
- Steele, E.; Noblet, G. 1993. Gametogenesis, Fertilización y diferenciación del Ookinete del *Leucocytozoon smithi*. Journal of Eukaryotic Microbiology Vol. 40 (3) Mayo-Junio. p384-391.
- Stuht, J.; W. Bowerman; D. Best. 1999. Leucocytozoonosis in Nesting Bald Eagles in Michigan and Minnesota. Journal of Wild Diseases Vol 35(3). p608-612. <http://www.jwildlifedis.org/cgi/reprint/35/3/608.pdf>
- Tello, A.; Gunnar Engblom. 2004. Aves de los Humedales de Puerto Viejo. Municipalidad de San Antonio-Cañete. www.munisanantonio.gob.pe/download.php?id=3-1
- Tome, Ricardo; N. Santos; P. Cardia; N. Ferrand; E. Korpimaki. 2005. Factors affecting the prevalence of blood parasites of little owls *Athene noctua* in Southern Portugal. Ornis Fennica 82: 63-72.
- Travis, B.; Goodwin, M.; Gambrell E. 1939. Notas preliminares en la ocurrencia de *Leucocytozoon smithi* Laveran y Lucet 1905 en pavos del sur este de los Estados Unidos. The journal of parasitology. Vol 25(2). p278
<http://links.jstor.org/sici?sici=0022-3395%28193906%2925%3A3%3C278%3APNOTOO%3E2.0.CO%3B2-%23>
- Volkmar, F. 1929. Observaciones de *L. smithi*, con notas de Leucocytozoon en otras aves. Journal of Parasitology: Vol. 16(1), Setiembre. p24-28. <http://links.jstor.org/sici?sici=0022-3395%28192909%2916%3A1%3C24%3AOOLSWN%3E2.0.CO%3B2-AK>
- Waldorf, Phil. 2000. Health Hazards from Pigeons, Starlings and English Sparrow. Diseases and Parasites Associated with Pigeons, Starlings and English Sparrows which affect Man and Domestic Animals. Segunda edición. <http://bellbirdcontrol.com/Bird-Book2.pdf>

- Wehr, E. 1962. Studies on Leucocitooonosis of Turkeys, with notes of Schizogony, Transmission and control of *Leucocytozoon smithi*. Avian Diseases: Vol. 6 (2) Mayo. p195-210. Publish by American Association of Avian Pathologists, Inc. <http://olinks.jstor.org/sici?sici=0005-2086%28196205%296%3A2%3C195%3ASOLOTW%3E2.0.CO%3B2-9>

- Whiteman, C. 1983. Manual de enfermedad de aves. Ed. 2°. p186-188.

- Wygodzinsky, P.; S. Coscarón. 1973. A review of Mesoamerican and South American blackflies of the tribe Prosimuliini (Simuliinae, Simuliidae). Bulletin of the American Museum of Natural History (AMNH), New York 151(2): 129-200. <http://digitallibrary.amnh.org/dspace/bitstream/2246/598/1/B151a02.pdf>

- Wygodzinsky, P.; S. Coscarón. 1972. Taxonomy And Distribution Of The Black Fly Subgenus Simulium (Pternaspatha) Enderlein (Simuliidae, Diptera, Insecta). Bulletin of the American Museum of Natural History (AMNH), New York 147(4): 199-240. <http://digitallibrary.amnh.org/dspace/bitstream/2246/1097/1/B147a04.pdf>

APÉNDICE 1

Tabla 7. Especies de *Simulium* spp. Registradas para Perú

UBICACIÓN	ESPECIE
Cusco	<i>S. albicinctum</i> , <i>S. costarricense</i> , <i>S. ochraceum</i> (<i>bipunctatum</i>), <i>S. argentiscutum</i> , <i>S. paynei</i> , <i>S. inaequale</i> (<i>argentatum</i>), <i>S. rubiginosum</i> , <i>S. strigatum</i> , <i>S. awa</i> , <i>S. macca</i> , <i>S. pennipunctus</i> , <i>S. Incapucara</i>
Junín	<i>S. romanai</i> , <i>S. yacuchuspi</i> , <i>S. wygodzinskyorum</i> , <i>S. patihuaycensis</i> , <i>S. arrarteorum</i> , <i>S. chacabamba</i> , <i>S. mayuchuspi</i>
Lima	<i>S. herreri</i> , <i>S. blancasi</i> , <i>S. abalosi</i>
Perú	<i>S. ignescens</i> , <i>S. oxiguum</i> , <i>S. Dinellii</i>
Piura	<i>S. metallicum</i> (<i>nitidum</i>)
Puno	<i>S. prodexargenteum</i> , <i>S. strigidorsum</i>
Tacna	<i>S. tenuipes</i>
Río Charape	<i>S. townsendi</i> , <i>S. flavipictum</i>
Cusco y Calca	<i>S. jujuyense</i> (<i>spinifer</i> , <i>limbatum</i> , <i>angustitarse</i>)
Cusco y Junín	<i>S. albilineatum</i> , <i>S. cormonsi</i>
Cusco y Lima	<i>S. seriatum</i> (<i>laticolx</i>), <i>S. huairayacu</i> , <i>S. lahillei</i>
Cusco, Lima y Arequipa	<i>S. chalcocoma</i> (<i>latitarse</i>)
Cusco, Lima y Huanuco	<i>S. bicoloratum</i>
Cusco, Lima y Junín	<i>S. herreri</i>
Cusco, Junín y Puno	<i>S. barbatipes</i>
Cusco, Huanuco y Junín	<i>S. lutzianum</i>
Cusco, Huanuco, Junín y Lima	<i>S. argentatum</i> (<i>urubambanum</i> , <i>glaucophthalmum</i>)
Ancash, Arequipa, Lima y Tacna	<i>S. escomeli</i> (<i>rufidorsum</i>)

(Crosskey and Howard, 2004)

Tabla 8. Géneros y especies de *Simulium* sp registradas para Perú

Genero Gigantodax Enderlein	Departamento
awa Wygodzinsky y Coscarón, 1989	Cusco
patihuaycensis Wygodzinsky y Coscarón, 1989	Junín
arrarteorum Wygodzinsky y Coscarón, 1989	Junín
pennipunctus Enderlein, 1934	Cusco
abalosi Wygodzinsky, 1958	Lima
cormonsi Wygodzinsky y Coscarón, 1989	Junín y Cusco
herrerri Wygodzinsky y Coscarón, 1989	Junín, Lima y Cusco
incapucara Wygodzinsky y Coscarón, 1989	Cusco
Genero Pedrowygomyia Coscarón y Miranda-Esquivel	
Chacabamba Wygodzinsky y Coscarón, 1989	Junín
Genero Simulium Latreille	
Subgenus Ectemnaspis Enderlein	
bicoloratum Malloch, 1912	Lima, Cusco, Huanuco
ignescens Roubaud, 1906	Perú
rubiginosum (Enderlein, 1934)	Cusco
Subgenus Hemicnetha Enderlein	
seriatum Knab, 1914	Lima, Cusco
Subgenus Inaequalium Coscarón y Wygodzinsky	
inaequale Paterson y Shannon, 1927	Cusco
Subgenus Notolepria Enderlein	
Oxiguum Roubaud, 1906	Perú
Subgenus Psaroniocompsa Enderlein	
jujuyense Paterson y Shannon, 1927	Perú
argentiscutum Shelley y Luna Dias, 1980	Perú

Subgenus Psilopelmia Enderlein	
Dinelli (Joan, 1912)	Perú
ochraceum Walter, 1961	Perú
escomeli Roubaud, 1909	Arequipa, Ancash, Lima, Tacna
lutzianum Pinto, 1932	Cusco, Huanuco, Junín
mayuchuspi Coscarón, 1990	Junín
romanai Wygodzinsky, 1951	Junín
flavipictum Knab, 1914	Perú
Subgenus Pternaspatha Enderlein	
albicinatum Enderlein, 1934	Perú
albilineatum Enderlein, 1936	Cusco, Junín
herrerii Wygodzinsky y Coscarón, 1967	Lima
prodexargenteum Enderlein, 1936	Perú
yacuchuspi Wygodzinsky y Coscarón, 1967	Junín
strigidorsum Enderlein, 1934	Puno
Subgenus Trichodagmia Enderlein	
chalcocoma Knab, 1914	Arequipa, Cusco, Lima
huairayacu Wygodzinsky, 1953	Cusco, Lima
lahillei Paterson y Shannon, 1927	Cusco, Lima
wygodzinskyorum Coscarón y Py-Daniel, 1989	Junín

(Crosskey and Howard, 2004)

APÉNCICE 2

Procedimientos para la elaboración de la tinción Giemsa según el Instituto Nacional de Salud

♦ Preparación de la solución madre del colorante Giemsa

Materiales

- 1 g de Giemsa en polvo.
- 66 ml de glicerina.
- 66 ml de metanol absoluto 100%.

Preparación

- Colocar el colorante Giemsa en polvo en un recipiente.
- Añadir el metanol y disolver homogéneamente.
- Por último agregar la glicerina y dejar reposar en un recipiente oscuro.

♦ Preparación de la solución básica o ácida

Materiales

- Agua destilada.
- Fosfato dibásico Na_2HPO_4 .
- Fosfato ácido de sodio NaH_2PO_4 .

Preparación

- Ácido: 250 ml de agua destilada y 0.75 de NaH_2PO_4 .
- Básico: 250 ml de agua destilada y 0.75 de Na_2HPO_4 .

♦ Preparación de la solución tamponada de fosfatos

- Se coloca el agua destilada en un recipiente, se mide el pH y, dependiendo del resultado, se le agrega solución ácida o básica hasta obtener un pH neutro de 7.

♦ Preparación de la coloración Giemsa trabajo

Materiales

- Agua destilada.
- Solución madre del colorante de Giemsa.

Preparación

- Se obtiene agregando 1ml de Giemsa madre y 10 ml de solución tamponada de fosfatos.

APÉNDICE 3

Tabla 9. Aves de Humedales de Puerto Viejo Migratorias de Norte América

FAMILIA	NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE EN INGLÉS
ARDEIDAE (GARZAS)	Egreta tricolor	Garza pechiblanca	Tricolored heron
ACCIPITRIDAE SUBFAMILIA PANDIONINAE (AGUILAS)	Pandion haliaetus	Águila pescadora	Osprey
FALCONIDAE (HALCONES)	Falco peregrinus	Halcón peregrino	Peregrine falcon
PHALAROPODIDAE (FALAROPOS)	Phalaropus tricolor	Falaropio tricolor	Wilson's phalarope
	Phalaropus fulicaria	Falaropio pico grueso	Red phalarope
CHARADRIDAE (CHORLOS)	Charadrius semipalmatus	Chorlo semipalmado	Semipalmated plover
	Pluvialis squatarola	Chorlo ártico	Black-bellied plover
SCOLOPACIDAE (PLAYEROS)	Tringa flavipes	Patas amarillas menor	Lesser yellowlegs
	Tringa melanoleuca	Patas amarillas mayor	Greater yellowlegs
	Actitis macularia	Playero manchado	Spooytted sandpiper
	Calidris alba	Playero blanco	Sanderling
	Calidris pusilla	Playero semipalmado	Semipalmated sandpiper
	Calidris melanotos	Playero pectoral	Pectoral sandpiper
	Calidris himatopus	Playero pata larga	Stilt sandpiper
	Calidris mauri	Playero occidental	Western sandpiper
	Calidris bairdii	Playero de Bairdii	Baird's sandpiper
	Numenius phaeopus	Zarapito trinador	Whimbrell
	Arenaria interpres	Vuelve piedras	Ruddy Turnstone
	Calidris minutilla	Playerito pico fino	Least sandpiper
RINCHOPIDAE (RAYADORES)	Rinchops niger	Rayador	Black skimmer

LARIDAE (GAVIOTAS)	Larus pipixcan	Gaviota de Franklin	Franklin's gull
	Larus cirrocephalus	Gaviota capucha gris	Gray-headed gull
	Larus serranus	Gaviota andina	Andean gull
	Larus belcheri	Gaviota peruana	Band-tailed gull
	Larus dominicanus	Gaviota dominicana	Kelp'gull
	Larus modestus	Gaviota gris	Gray gull
	Larus atricilla	Gaviota centroamericana	Laughing gull
STERNIDAE (GAVIOTINES)	Sterna elegans	Gaviotin elegante	Elegant tern
	Sterna sandvicensis	Gaviotin patinegro	Sandwich tern
HIRUNDINIDAE (GOLONDRINAS)	Hirundo rustica	Golondrina migratoria	Barn swallow
	Progne subis	Golondrina azulnegra	Purple martin
	Petricholidon pyrrhonota	Golondrina risqueta	Cliff swallow

(Tello, A. y Gunnar Engblom, 2004)

Tabla 10. Aves silvestres susceptibles a la Leucocytozoonosis

FAMILIA	ESPECIE	LEUCOCYTOZOON
Accipitridae (Águilas)	<i>Haliaeetus leucocephalus</i>	<i>L. todii</i>
Paridae (Carbonero común)	<i>Parus major</i>	<i>L. dubreuii</i>
	<i>Parus caeruleus</i>	<i>L. majoris</i>
	<i>Passer domesticus</i>	<i>L. fringuillinarum</i>
Ardeidae (Garzas)	<i>Syrigma sibilatrix</i>	<i>L. spp.</i>
Falconidae (Halcón)	<i>Falco subbuteo</i>	<i>L. todii</i>
	<i>Falco tinnunculus</i>	<i>L. todii</i>
Phasianidae, Subfamilia tetraoninae (Gallos y faisanes)	<i>Dendragapus obscurus</i>	<i>L. lovati, L. spp.</i>

(Stuht, 1999; Crone, 2001; Allan, 1989; Gill, 2005)

APÉNDICE 4

FOTO 1. PAVITO POSTRADO



FOTO 2. INTESTINOS HEMORRÁGICOS Y CONGESTIONADOS

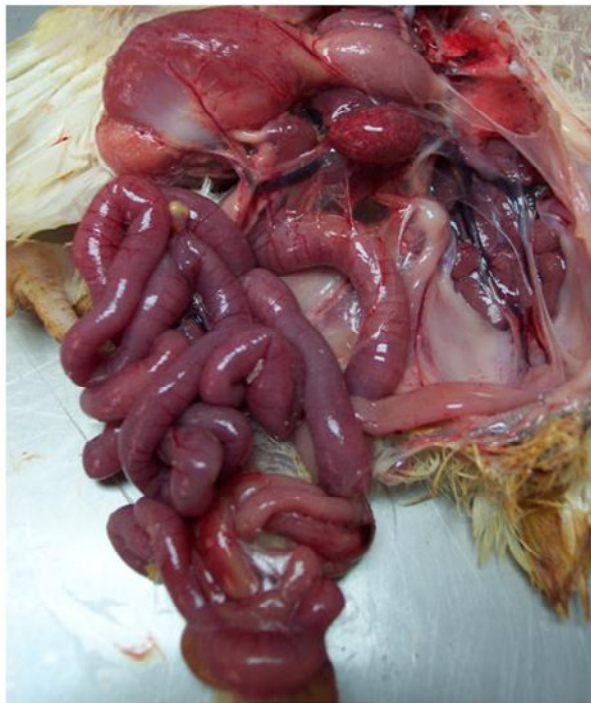


FOTO 3. INTESTINOS HEMORRÁGICOS Y CONGESTIONADOS



FOTO 4. HEPATOMEGALIA

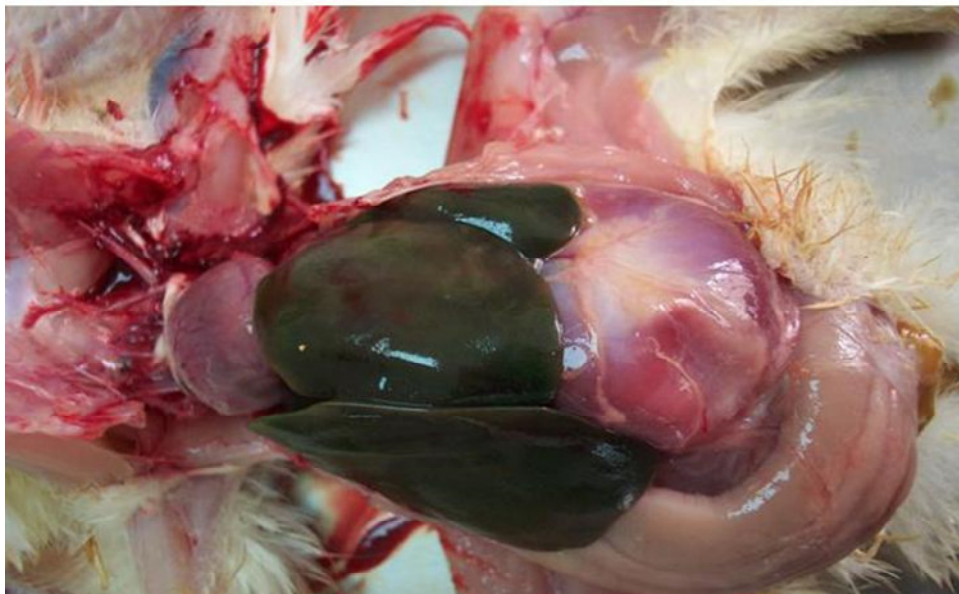


FOTO 5. BAZO HEMORRÁGICO

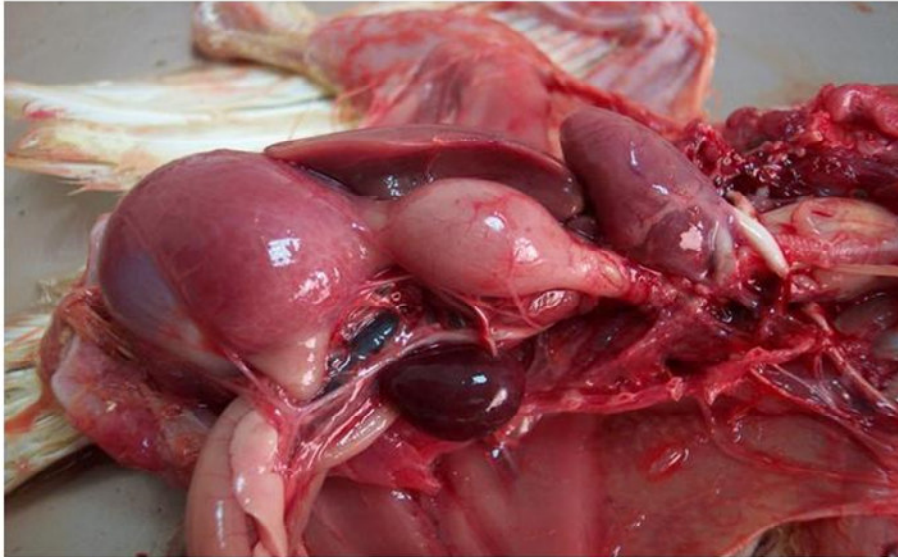


FOTO 6. BAZO HEMORRÁGICO Y MOTEADO



FOTO 7. ESTRUCTURAS PARASITARIAS EN RIÑÓN

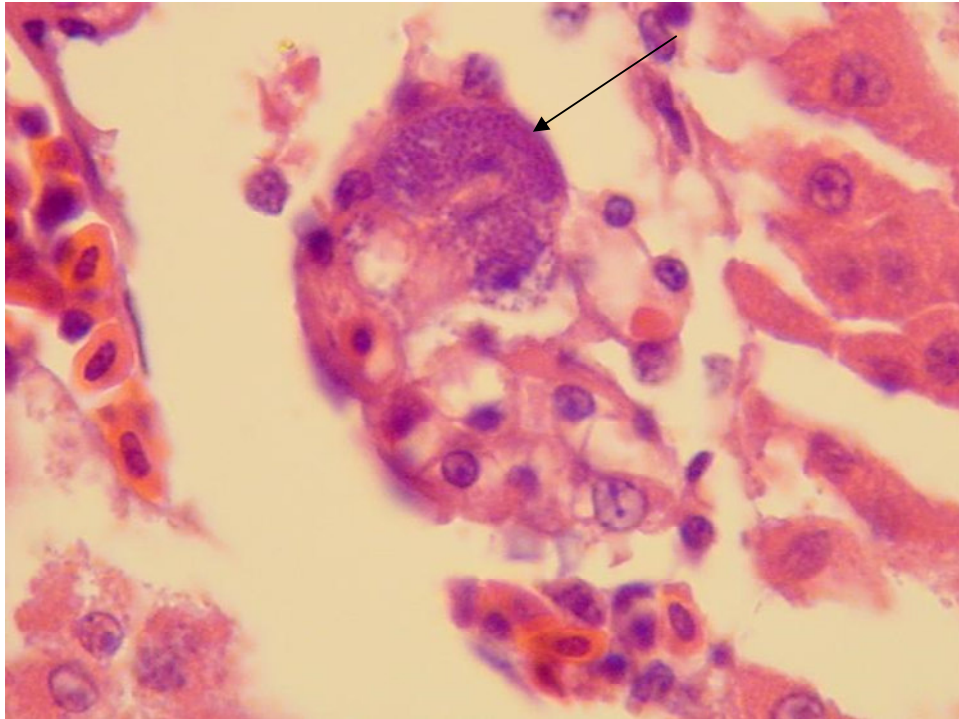


FOTO 8. ESTRUCTURAS PARASITARIAS EN RIÑÓN

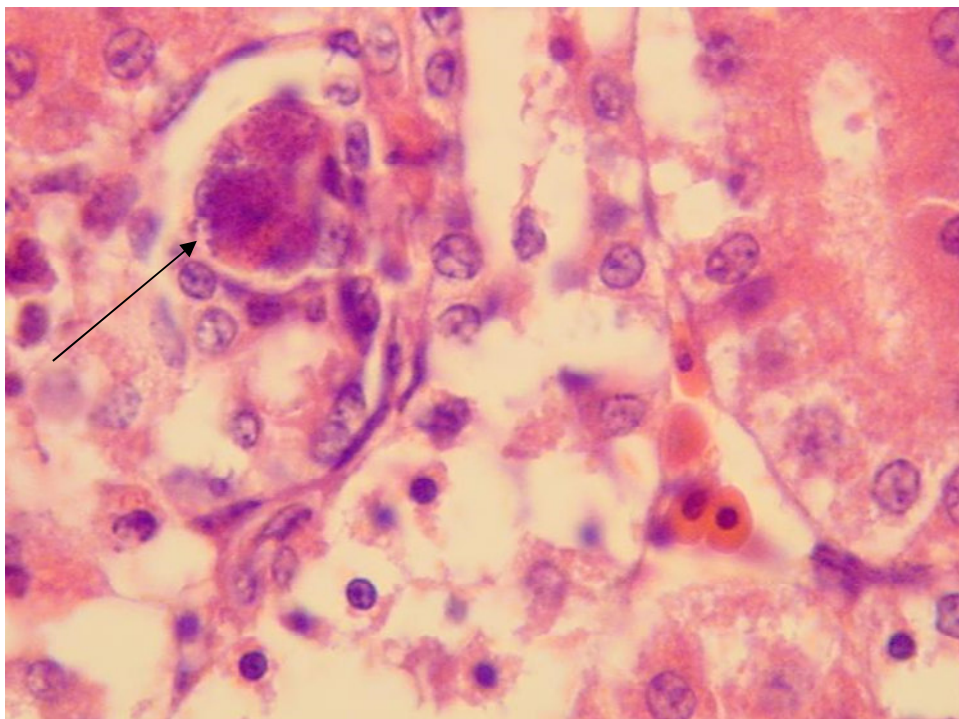


FOTO 9. ESTRUCTURAS PARASITARIAS EN RIÑÓN

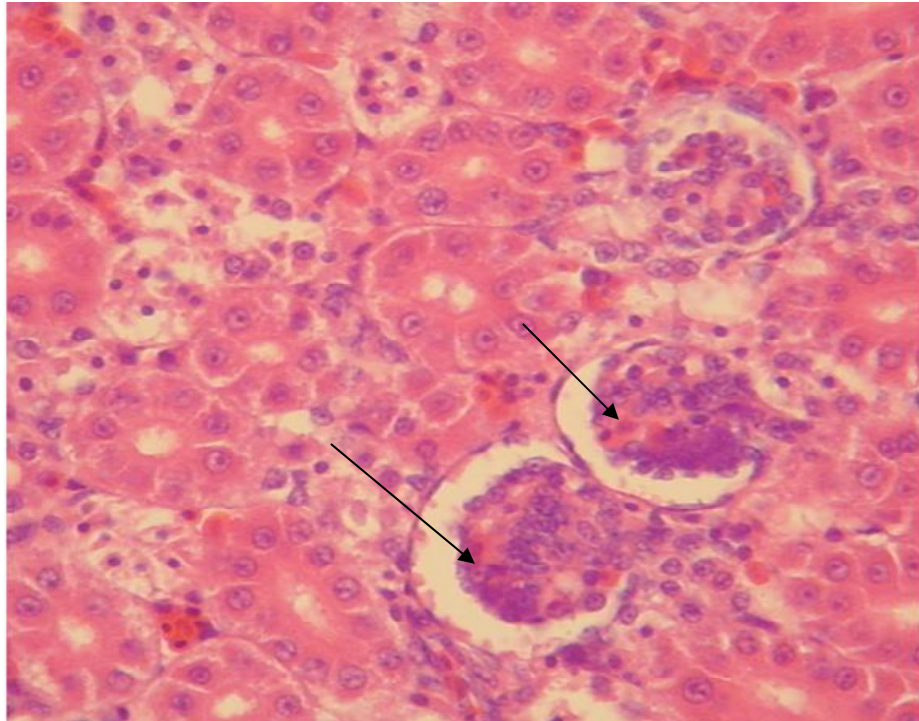


FOTO 10. ESTRUCTURAS PARASITARIAS EN HÍGADO

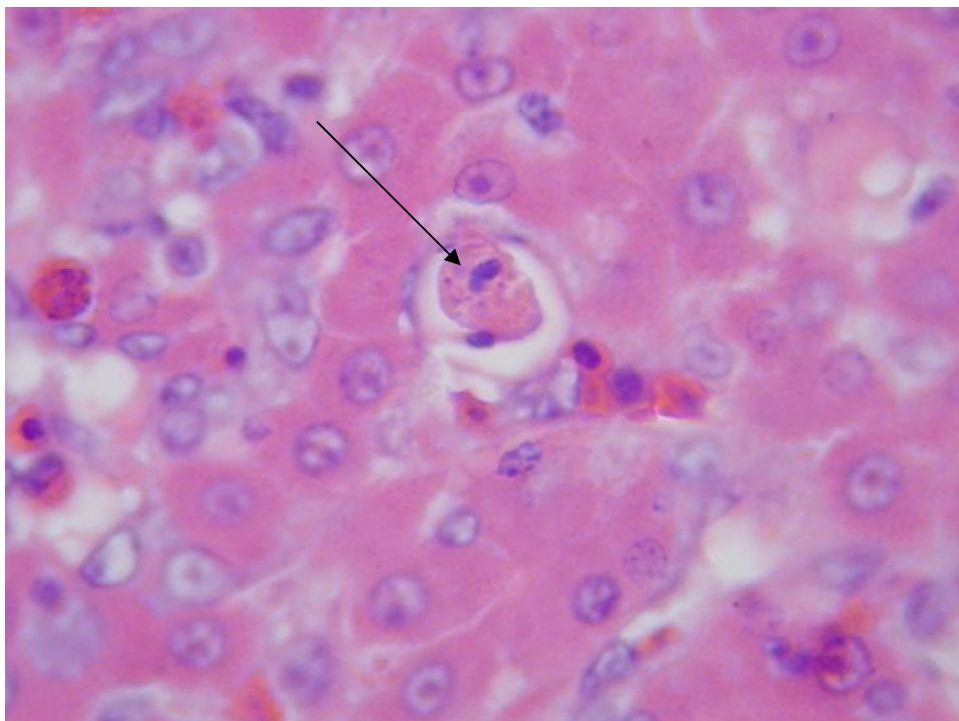
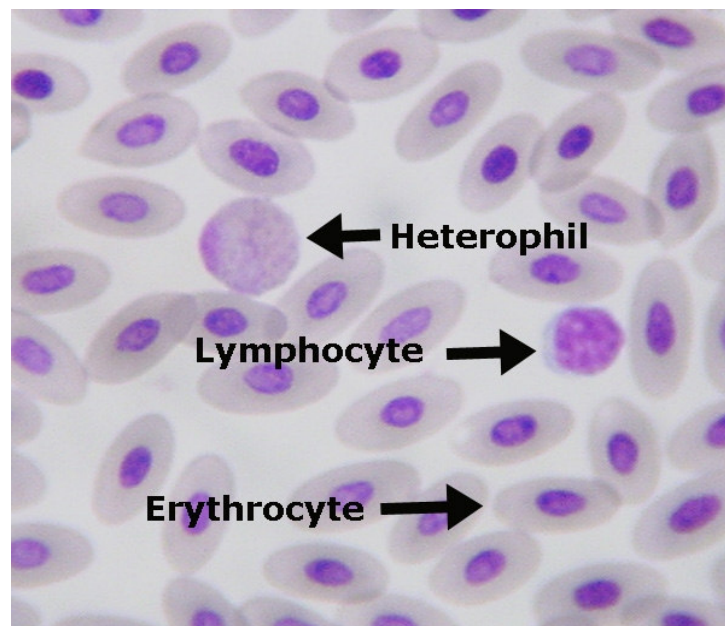
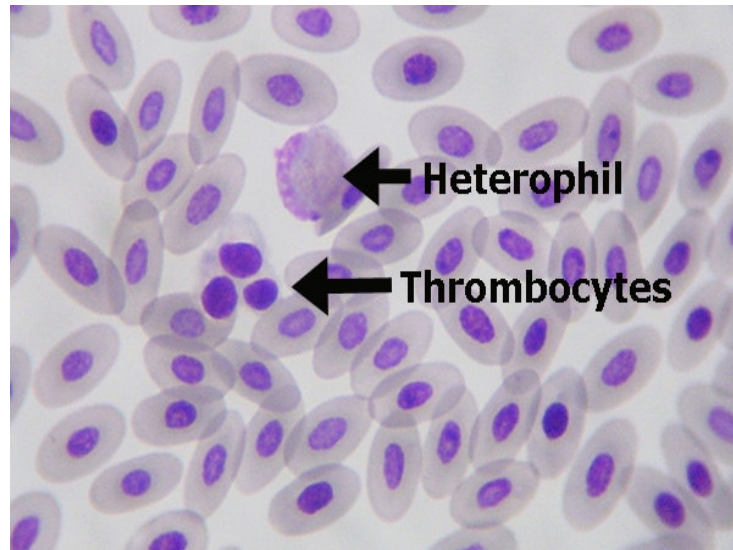


FOTO 11. FROTIS SANGUÍNEO DE PAVOS MUESTREADOS



FIGURAS

FIGURA 3. MICROGAMETOCYTO (Bermúdez, 2003)

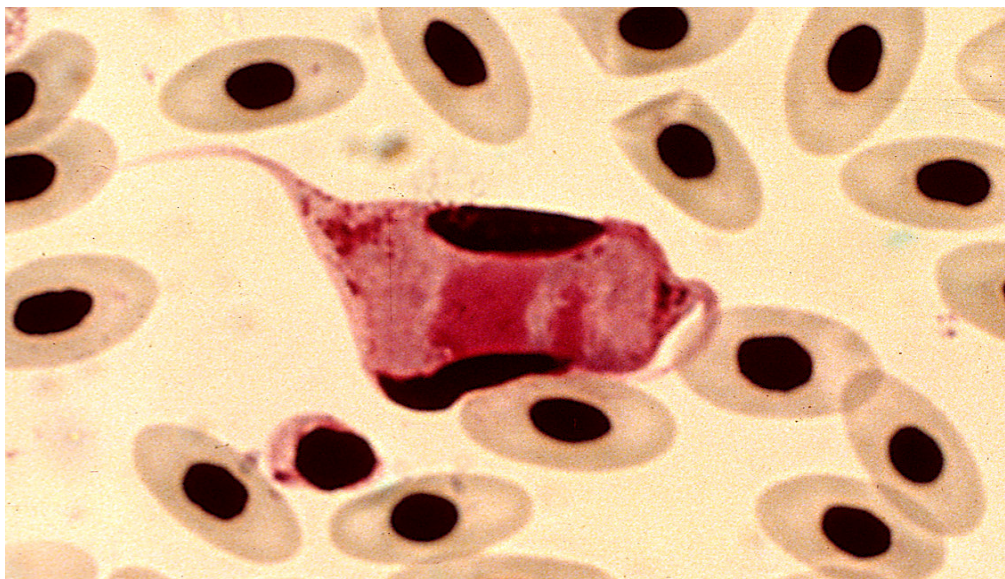


FIGURA 4. MACROGAMETOCYTO (Bermúdez, 2003)

